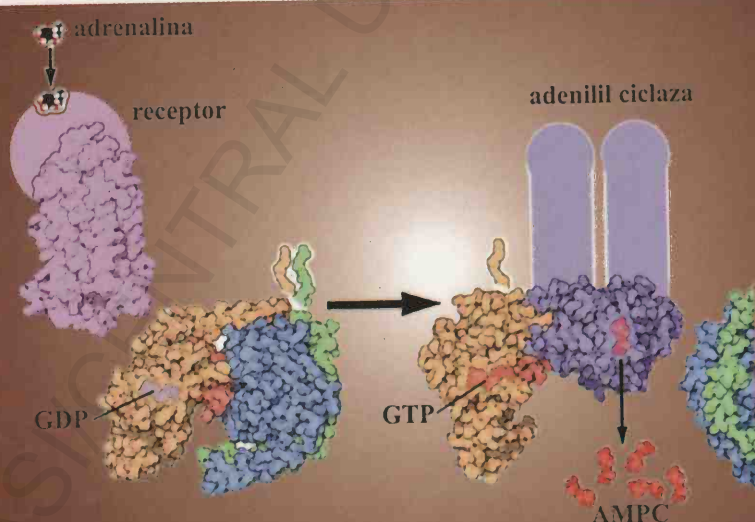


DUMITRU C. COJOCARU ELENA CIORNEA

SABINA IOANA COJOCARU

BIOCHIMIA VITAMINELOR ȘI A HORMONILOR



EDITURA ACADEMIEI ROMÂNE

BIBL. CENTR UNIV
"M. EMINESCULEA" IASI

III 306.800

BIOCHIMIA VITAMINELOR ȘI A HORMONILOR

BIOCHIMIA VITAMINELOR
ȘI A HORMONILOR

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BIOCHEMISTRY OF VITAMINS AND HORMONES

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

DUMITRU C. COJOCARU

ELENA CIORNEA

SABINA IOANA COJOCARU

9179h

BIOCHIMIA VITAMINELOR ȘI A HORMONILOR



EDITURA ACADEMIEI ROMÂNE
București, 2010



Copyright © Editura Academiei Române, 2010
Toate drepturile asupra acestei ediții sunt rezervate editurii.

EDITURA ACADEMIEI ROMÂNE
Calea 13 Septembrie, nr. 13, Sector 5
050711, București, România,
Tel: 4021-318 81 46, 4021-318 81 06
Fax: 4021-318 24 44
E-mail: edacad@ear.ro
Adresa web: www.ear.ro

Referent științific: Prof. dr. Octavian POPESCU
membru corespondent al Academiei Române

Descrierea CIP a Bibliotecii Naționale a României

COJOCARU, DUMITRU C.

Biochimia vitaminelor și hormonilor / Dumitru C. Cojocaru, Elena Ciornea, Sabina Ioana Cojocaru. - București : Editura Academiei Române, 2010

ISBN 978-973-27-1929-9

I. Ciornea, Elena

II. Cojocaru, Sabina Ioana

577.16(075.8)

Redactor: Doina ARGEȘANU
Tehnoredactare: Luiza STAN
Coperta: Mariana ȘERBĂNESCU

Bun de tipar: 27.09.2010. Format: 16/70 × 100
Coli de tipar: 35,75

C.Z. pentru biblioteci mari: $\begin{cases} 577.16 \\ 577.17 \end{cases}$

C.Z. pentru biblioteci mici: 577.1

1 6.MAI.239

CUPRINS

Sommaire	13
Contents	21
Prefață	29
Abrevieri	31

Partea I BIOCHIMIA VITAMINELOR

1. Scurt istoric. Generalități	35
2. Vitaminele liposolubile.....	40
2.1. Vitamina A (retinol, vitamina antixeroftalmică, vitamina creșterii).....	40
2.1.1. Generalități	40
2.1.2. Structura chimică a provitaminelor și vitaminelor A.....	41
2.1.3. Stare naturală	48
2.1.4. Proprietățile provitaminelor și a vitaminelor A	50
2.1.5. Metabolismul vitaminelor A.....	50
2.1.6. Sinteza chimică a vitaminei A	61
2.1.7. Rolul biologic al vitaminelor A	62
2.1.8. Unități de activitate vitaminică A și necesități nutriționale	67
2.1.9. Tulburări de aport vitaminic	69
2.1.10. Grupe de risc	73
2.1.11. Sinergie.....	73
2.1.12. Derivați sintetici ai vitaminei A	73
2.1.13. Antivitamine A.....	76
2.2. Vitamina D (calciferol, vitamina antirahitică).....	77
2.2.1. Generalități	77
2.2.2. Structura chimică a provitaminelor și a vitaminelor D	78
2.2.3. Stare naturală	83
2.2.4. Metabolismul provitaminelor și vitaminelor D.....	84
2.2.4.1. Transformarea provitaminelor D în vitamine D.....	84
2.2.4.2. Absorbția intestinală	85
2.2.4.3. Catabolismul și eliminarea calciferolilor și a derivaților lor....	88
2.2.5. Rolul biologic al calciferolilor	91
2.2.6. Unități de activitate vitaminică. Necesități nutriționale	94
2.2.7. Tulburări de aport vitaminic	95
2.2.8. Grupe de risc.....	100
2.2.9. Sinergie.....	100
2.2.10. Interferențe medicamentoase	100

2.2.11. Antivitamine D	101
2.3. Vitamina E (tocoferolii, vitamina antisterilității, vitamina fertilității, vitamina reproducției)	104
2.3.1. Generalități	104
2.3.2. Structura chimică și proprietățile tocoferolilor	104
2.3.3. Stare naturală	108
2.3.4. Sinteza chimică a tocoferolilor	109
2.3.5. Metabolismul tocoferolilor	110
2.3.6. Rolul biologic al tocoferolilor	111
2.3.7. Unități de activitate vitaminică și necesități zilnice	116
2.3.8. Tulburări de aport vitaminic	117
2.3.9. Grupe de risc	121
2.3.10. Substanțe cu acțiune antagonistă tocoferolilor	121
2.4. Vitamina K (filochinone, vitamina coagulării, vitamina antihemoragică, factorul protrombincic)	122
2.4.1. Generalități	122
2.4.2. Structura chimică și proprietățile vitaminelor K	122
2.4.3. Stare naturală	124
2.4.4. Sinteza chimică a vitaminelor K	125
2.4.5. Metabolismul vitaminelor K	127
2.4.5.1. Absorbția intestinală a vitaminelor K	128
2.4.5.2. Degradarea hepatică a vitaminelor K	128
2.4.6. Rolul biologic al vitaminelor K	129
2.4.6.1. Rolul vitaminelor K în coagularea sângelui	129
2.4.6.2. Rolul vitaminei K în oxidoreducerile tisulare și alte activități enzimatiche	134
2.4.7. Unități de activitate vitaminică	136
2.4.8. Tulburări de aport vitaminic	137
2.4.8.1. Explorarea funcțională a tulburărilor de aport vitaminic	137
2.4.8.2. Hipovitaminoza K	139
2.4.8.3. Hipervitaminoza K	140
2.4.9. Grupe de risc	141
2.4.10. Antivitamine K	141
2.5. Vitamina F (acizi grași esențiali)	143
2.5.1. Generalități	143
2.5.2. Structura chimică și proprietățile vitaminei F	143
2.5.3. Stare naturală	144
2.5.4. Metabolismul vitaminei F	145
2.5.5. Unități de activitate	151
2.5.6. Tulburări de aport vitaminic	151
3. Vitaminele hidrosolubile	153
3.1. Vitamina B ₁ (tiamina, aneurina, vitamina anti-beri-berică, vitamina antinevritică)	153
3.1.1. Generalități	153
3.1.2. Structura chimică și proprietățile vitaminei B ₁	154
3.1.3. Stare naturală	156
3.1.4. Metabolismul tiaminei	157

3.1.4.1. Absorbția tiaminei.....	157
3.1.4.2. Fosforilarea tiaminei	157
3.1.4.3. Difuzia tiaminei	160
3.1.4.4. Eliminarea tiaminei.....	160
3.1.5. Rolul biologic al tiaminei	161
3.1.5.1. Rolul vitaminei B ₁ în decarboxilarea α -cetoacizilor	161
3.1.5.2. Rolul vitaminei B ₁ în reacțiile de transacetilare.....	164
3.1.5.3. Tiamina și boala Alzheimer	164
3.1.5.4. Tiamina și bolile canceroase	165
3.1.6. Unități de activitate vitaminică.....	165
3.1.7. Tulburări de aport vitaminic	167
3.1.7.1. Cauzele carenței tiaminice	168
3.1.7.2. Simptomele clinice ale carenței în tiamină	169
3.1.8. Antivitamine B ₁	173
3.2. Vitamina B ₂ (riboflavina, vitamina G)	174
3.2.1. Generalități	174
3.2.2. Structura chimică și proprietățile riboflavinei	175
3.2.3. Stare naturală	177
3.2.4. Sinteza chimică a riboflavinei.....	178
3.2.5. Metabolismul riboflavinei	180
3.2.5.1. Absorbția intestinală a riboflavinei	182
3.2.5.2. Transportul plasmatic al riboflavinei	182
3.2.5.3. Eliminarea riboflavinei	182
3.2.5.4. Stocarea și utilizarea riboflavinei.....	183
3.2.5.5. Controlul tiroidian al metabolismului riboflavinei.....	184
3.2.6. Rolul biologic al riboflavinei.....	184
3.2.6.1. Intertransformarea riboflavină – FMN-FAD.....	184
3.2.6.2. Rolul coenzimelor flavinice în catena respiratorie.....	186
3.2.6.3. Rolul cofactorilor flavinici în catabolismul acizilor grași și aminoacizilor.....	187
3.2.7. Necesarul de vitamină B ₂	189
3.2.8. Tulburări de aport vitaminic	191
3.2.9. Grupe de risc.....	193
3.2.10. Antivitamine B ₂	193
3.3. Vitamina PP (niacină, nicotinamidă, factor pelagro-preventiv, vitamina B ₃) ...	194
3.3.1. Generalități	194
3.3.2. Structura chimică și proprietățile vitaminei PP.....	195
3.3.3. Stare naturală	196
3.3.4. Metabolismul vitaminei PP.....	197
3.3.4.1. Absorbția intestinală	197
3.3.4.2. Biosinteza niacinei.....	197
3.3.4.3. Circulația, repartiția și activarea niacinei.....	202
3.3.4.4. Catabolismul niacinei.....	203
3.3.5. Rolul biologic al niacinei.....	205
3.3.6. Necesarul de vitamină PP	206
3.3.7. Tulburări de aport vitaminic	207

3.3.8. Grupe de risc.....	209
3.3.9. Sinergie	209
3.3.10. Antivitamine PP.....	209
3.4. Acid folic (acid pteroilglutamic, vitamina B ₄ , vitamina M).....	210
3.4.1. Generalități	210
3.4.2. Structura chimică și proprietățile acidului folic.....	211
3.4.3. Stare naturală.....	211
3.4.4. Metabolismul acidului folic.....	212
3.4.4.1. Biosinteza ciclului pteridinic	213
3.4.4.2. Biosinteza acidului <i>p</i> -aminobenzoic	213
3.4.4.3. Biosinteza acidului ptericoic și acidului folic	213
3.4.5. Rolul biologic al acidului folic	215
3.4.6. Necesarul de acid folic.....	218
3.4.7. Tulburări de aport vitaminic	219
3.4.8. Substanțe cu acțiune antagonistă acidului folic	219
3.5. Acidul pantotenic (vitamina B ₅) și coenzima A.....	220
3.5.1. Generalități	220
3.5.2. Structura chimică și proprietățile acidului pantotenic.....	221
3.5.3. Stare naturală.....	222
3.5.4. Metabolismul acidului pantotenic.....	223
3.5.4.1. Biosinteza acidului pantotenic	223
3.5.4.2. Absorbția intestinală și transportul acidului pantotenic	227
3.5.4.3. Catabolismul acidului pantotenic.....	229
3.5.5. Rolul biologic al acidului pantotenic	230
3.5.6. Necesarul de acid pantotenic	231
3.5.7. Tulburări de aport vitaminic	232
3.5.8. Grupe de risc.....	232
3.5.9. Substanțe cu acțiune antagonistă acidului pantotenic	233
3.6. Vitamina B ₆ (piridoxina, adermina)	233
3.6.1. Generalități	233
3.6.2. Structura chimică și proprietățile vitaminei B ₆	234
3.6.3. Stare naturală.....	235
3.6.4. Sinteza chimică a vitaminei B ₆	236
3.6.5. Metabolismul vitaminei B ₆	236
3.6.5.1. Biosinteza vitaminei B ₆	237
3.6.5.2. Absorbția intestinală a vitaminei B ₆	238
3.6.5.3. Circulația și repartitia în țesuturi.....	238
3.6.5.4. Activarea vitaminei B ₆ sub formă de piridoxal-fosfat.....	239
3.6.5.5. Catabolismul și eliminarea vitaminei B ₆	240
3.6.6. Rolul biologic al vitaminei B ₆	240
3.6.6.1. Decarboxilarea aminoacizilor	242
3.6.6.2. Transaminarea aminoacizilor	245
3.6.6.3. Alte reacții enzimactice ce au loc cu participarea piridoxalfosfatului.....	250
3.6.7. Necesarul de vitamină B ₆	253
3.6.8. Tulburări de aport vitaminic	253

3.6.8.1. Manifestările clinice și biochimice ale hipovitaminozei B ₆ experimentale.....	254
3.6.8.2. Cauzele hipovitaminozei B ₆	254
3.6.8.3. Boli metabolice piridoxalfosfat-dependente	257
3.6.8.4. Hipervitaminoza B ₆	258
3.6.9. Antivitamine B ₆	258
3.7. Biotina (Vitamina H, vitamina B ₈ , coenzima R)	259
3.7.1. Generalități	259
3.7.2. Structura chimică și proprietățile biotinei.....	259
3.7.3. Stare naturală	260
3.7.4. Metabolismul biotinei.....	262
3.7.4.1. Biosinteza biotinei	263
3.7.4.2. Absorbția intestinală	263
3.7.4.3. Circulația biotinei.....	264
3.7.4.4. Activarea biotinei.....	265
3.7.4.5. Catabolismul biotinei	266
3.7.5. Rolul biologic al biotinei	266
3.7.5.1. Mecanismul carboxilării biotinei	266
3.7.5.2. Carboxilazele biotin-dependente.....	267
3.7.6. Necesarul de biotină	271
3.7.7. Tulburări de aport vitaminic	271
3.7.8. Maladii metabolice prin deficit de carboxilaze.....	272
3.7.9. Grupe de risc.....	273
3.7.10. Antivitamine	274
3.8. Vitamina B ₁₂ (cobalamina, factorul antipernicios).....	274
3.8.1. Generalități	274
3.8.2. Structura chimică și proprietățile vitaminei B ₁₂	275
3.8.3. Stare naturală	276
3.8.4. Metabolismul cobalaminei.....	277
3.8.4.1. Biosinteza vitaminei B ₁₂	277
3.8.4.2. Absorbția intestinală a vitaminei B ₁₂	278
3.8.4.3. Circulația și repartitia tisulară a cobalaminei.....	279
3.8.4.4. Eliminarea vitaminei B ₁₂ din organism.....	280
3.8.5. Rolul biologic al cobalaminei.....	280
3.8.5.1. Enzime cobalamin-dependente	281
3.8.5.2. Rolul cobalaminei în hematopoieză	283
3.8.5.3. Rolul cobalaminei în sistemul nervos	283
3.8.5.4. Ipoteze fiziopatologice privind rolul cobalaminei	283
3.8.6. Necesarul de cobalamină	284
3.8.7. Tulburări de aport vitaminic	285
3.8.7.1. Simptomatologia clinică a hipovitaminozei B ₁₂	285
3.8.7.2. Simptomatologia hematologică a hipovitaminozei B ₁₂	286
3.8.7.3. Maladii metabolice ereditare.....	286
3.8.8. Antivitamine B ₁₂	287
3.9. Acidul lipoic (acidul tioctic)	287
3.9.1. Generalități	287
3.9.2. Structura chimică și proprietățile acidului lipoic	288

3.9.3. Sinteza chimică a acidului lipoic	289
3.9.4. Metabolismul acidului lipoic	290
3.9.4.1. Absorbția intestinală	290
3.9.4.2. Biosinteza acidului lipoic	290
3.9.4.3. Catabolismul și eliminarea acidului lipoic	291
3.9.5. Rolul biologic al acidului lipoic	291
3.9.6. Necesarul de acid lipoic	295
3.9.7. Tulburări de aport vitaminic	296
3.10. Vitamina C (acidul ascorbic, vitamina antiscorbutică)	296
3.10.1. Generalități	296
3.10.2. Structura chimică și proprietățile vitaminei C	298
3.10.3. Stare naturală	300
3.10.4. Metabolismul acidului ascorbic	302
3.10.4.1. Biosinteza și sinteza chimică a vitaminei C	302
3.10.4.2. Absorbția intestinală a acidului ascorbic	304
3.10.4.3. Catabolismul acidului ascorbic	305
3.10.5. Rolul biologic al acidului ascorbic	305
3.10.5.1. Transportul protonilor și electronilor	306
3.10.5.2. Biosinteza collagenului	306
3.10.5.3. Participarea acidului ascorbic la reacții de hidroxilare	307
3.10.5.4. Participarea acidului ascorbic la biosinteza carnitinei	307
3.10.5.5. Implicarea vitaminei C în biosinteza catecolaminelor	308
3.10.5.6. Rolul vitaminei C în metabolismul mineral	309
3.10.5.7. Rolul vitaminei C în răspunsul endocrin și alergic	309
3.10.5.8. Interacțiunea acidului ascorbic cu radicalii liberi	310
3.10.5.9. Rolul acidului ascorbic în funcțiile imunologice și anti-bacteriene	310
3.10.6. Necesarul de vitamină C	311
3.10.7. Tulburări de aport vitaminic	312
3.10.8. Utilizarea acidului ascorbic în scop terapeutic	314
3.10.9. Grupe de risc	315
3.11. Vitamina P (bioflavonoidele, vitamina permeabilității)	316
3.11.1. Generalități	316
3.11.2. Structura chimică și proprietățile vitaminei P	316
3.11.3. Rolul biologic al vitaminei P	316
3.12. Alte substanțe cu acțiune vitaminică	317
3.12.1. Ubichinona (Coenzima Q)	317
3.12.2. Mezoinozitolul	318
3.12.2.1. Generalități	318
3.12.2.2. Structura chimică și proprietățile mezoinozitolului	318
3.12.2.3. Biosinteza inozitolului	320
3.12.2.4. Carența în inozitol	321
3.12.3. Colina	322
3.12.3.1. Generalități	322
3.12.3.2. Structura chimică. Proprietăți	323
3.12.3.3. Răspândirea colinei în produsele naturale	323
3.12.3.4. Sinteza colinei	323

3.12.3.5. Metabolismul și rolul colinei în organismul animal.....	325
3.12.3.6. Simptomele insuficienței colinice.....	329
3.12.3.7. Antagoniștii colinei.....	329
3.12.3.8. Necesarul zilnic de colină.....	329
3.12.4. Alte vitamine ale complexului B.....	330
4. Vitaminele și nutriția.....	341
4.1. Aport nutrițional.....	341
4.2. Hipovitaminozele la grupele de risc.....	343
4.3. Aport nutrițional de vitamine.....	344
5. Vitaminoterapia.....	348
5.1. Vitaminele și interacțiunile medicamentoase.....	348
5.1.1. Tratamentul antituberculos.....	348
5.1.2. Tratamentul anticonvulsivant.....	349
5.2. Vitaminele și cancerul.....	352

Partea a II-a BIOCHIMIA HORMONILOR

1. Rolul hormonilor în organismele vii.....	369
1.1. Definiția și clasificarea hormonilor.....	369
1.2. Biosinteza, secreția, transportul și degradarea hormonilor.....	377
1.3. Receptorii hormonal.....	383
1.4. Mecanisme generale de acțiune ale hormonilor.....	390
2. Hormonii vertebratelor.....	398
2.1. Hormonii cu structură polipeptidică și proteică.....	398
2.1.1. Hormonii reglatori ai hipotalamusului.....	398
2.1.2. Hormonii hipofizei.....	404
2.1.2.1. Hormonii adenohipofizei.....	404
2.1.2.1.1. Hormonul de creștere.....	404
2.1.2.1.2. Prolactina.....	407
2.1.2.1.3. Hormonii gonadotropi.....	408
2.1.2.1.4. Hormonul tireotrop.....	411
2.1.2.1.5. Hormoni derivați de la pre-opiomelanocortină.....	411
2.1.2.2. Hormonii hipofizei intermediare.....	415
2.1.2.3. Hormonii neurohipofizari.....	418
2.1.2.3.1. Vasopresina.....	418
2.1.2.3.2. Ocitocina.....	420
2.1.2.3.3. Hormonii neurohipofizari și comportamentul.....	422
2.1.2.3.4. Neurofizinele.....	422
2.1.3. Hormonii pancreatici.....	423
2.1.3.1. Insulina.....	424
2.1.3.2. Glucagonul.....	431
2.1.4. Hormonii glandei paratiroide.....	433
2.1.4.1. Calcitonina și vitaminele D.....	435
2.1.5. Hormonii glandei timus.....	437
2.1.6. Hormonii gastrointestinali.....	438
2.1.7. Eritropoietina.....	439

2.1.8. Inima – organ endocrin?	441
2.1.9. Biosinteza și mecanismele de acțiune ale hormonilor polipeptidici	442
2.2. Hormoni derivați de la aminoacizi	445
2.2.1. Hormonii glandei tiroide.....	445
2.2.2. Hormonii medulosuprenalei	463
2.2.2.1. Metabolismul catecolaminelor.....	463
2.2.2.2. Rolul biologic al catecolaminelor	471
2.2.2.3. Reglarea activității medulosuprenalelor.....	472
2.2.3. Hormonul epifizei	473
2.2.3.1. Metabolismul melatoninei.....	473
2.2.3.2. Rolul biologic al melatoninei.....	475
2.3. Hormoni cu structură steroidică	476
2.3.1. Hormonii corticosuprenalei	477
2.3.2. Hormonii gonadali	497
2.3.2.1. Hormonii sexuali masculini (androgeni).....	497
2.3.2.2. Hormonii sexuali feminini	511
2.4. Hormonii tisulari	522
2.4.1. Hormoni tisulari propriu-ziși	523
2.4.2. Neurotransmițători	527
2.3. Hormoni derivați de la acizi grași.....	531
2.3.1. Prostaglandinele (Pg)	531
2.3.2. Tromboxanii (TX)	533
2.3.3. Leucotrienele (LT).....	534
3. Hormonii nevertebratelor	535
3.1. Hormonii crustaceelor	537
3.2. Hormonii insectelor	538
4. Fitohormonii	541
ANEXE	549
Bibliografie	557

SOMMAIRE

Contents	21
Préface	29
Les abréviations	31

Première partie LA BIOCHIMIE DES VITAMINES

1. Courte histoire. Généralités	35
2. Les vitamines liposolubles	40
2.1. La vitamine A (rétinol, la vitamine antixérophtalmique, la vitamine de la croissance)	40
2.1.1. Généralités	40
2.1.2. La structure chimique des provitamines et des vitamines A	41
2.1.3. L'état naturel	48
2.1.4. Les propriétés des provitamines et des vitamines A	50
2.1.5. Le métabolisme des vitamines A	50
2.1.6. La synthèse chimique de la vitamine A	61
2.1.7. Le rôle biologique de la vitamine A	62
2.1.8. Des unités de l'activité vitaminique A et des nécessités nutritionnelles...	67
2.1.9. Troubles de l'apport vitaminique	69
2.1.10. Les groupes de risque	73
2.1.11. Synergie	73
2.1.12. Les dérivés synthétiques de la vitamine A	73
2.1.13. Anti vitamines A	76
2.2. La vitamine D (calciférol, la vitamine antirachitique)	77
2.2.1. Généralités	77
2.2.2. La structure chimique des provitamines et des vitamines D	78
2.2.3. L'état naturel	83
2.2.4. Le métabolisme des provitamines et des vitamines D	84
2.2.4.1. La transformation des provitamines D en vitamines D	84
2.2.4.2. Absorption intestinale	85
2.2.4.3. Le catabolisme et élimination des calciférols et des ces dérivés	88
2.2.5. Le rôle biologique des calciférols	91
2.2.6. Des unités de l'activité vitaminique A et des nécessités nutritionnelles...	94
2.2.7. Troubles de l'apport vitaminique	95
2.2.8. Les groupes de risque	100
2.2.9. Synergie	100
2.2.10. Interférences avec les médicaments	100
2.2.11. Antivitamines D	101

2.3. La vitamine E (les tocophérols, la vitamine de l'anti stérilité, la vitamine de le fertilité, la vitamine de reproduction)	104
2.3.1. Généralités	104
2.3.2. La structure chimique et les propriétés des tocophérols	104
2.3.3. L'état naturel.....	108
2.3.4. La synthèse chimique de tocophérols	109
2.3.5. Le métabolisme des tocophérols.....	110
2.3.6. Le rôle biologique des tocophérols	111
2.3.7. Des unités de l'activité vitaminique et des nécessités journalières	116
2.3.8. Troubles de l'apport vitaminique.....	117
2.3.9. Les groupes de risque	121
2.3.10. Substances avec action antagonique	121
2.4. La vitamine K (phyloquinones, la vitamine de la coagulation, la vitamine antihémorragique)	122
2.4.1. Généralités	122
2.4.2. La structure chimique et les propriétés de la vitamine K.....	122
2.4.3. L'état naturel.....	124
2.4.4. La synthèse chimique de la vitamine K	125
2.4.5. Le métabolisme de la K	127
2.4.5.1. L'absorption intestinale des vitamines K.....	128
2.4.5.2. La dégradation hépatique des vitamines K	128
2.4.6. Le rôle biologique des vitamines K	129
2.4.6.1. Le rôle des vitamines K dans la coagulation sanguine.....	129
2.4.6.2. Le rôle des vitamines K dans les réactions redox cellulaires et autres réactions enzymatiques	134
2.4.7. Des unités de l'activité vitaminique.....	136
2.4.8. Troubles de l'apport vitaminique.....	137
2.4.8.1. L'exploration fonctionnelle des troubles d'apport vitaminique...	137
2.4.8.2. L'hypovitaminose K	139
2.4.8.3. L'hypervitaminose K	140
2.4.9. Les groupes de risque	141
2.4.10. Anti vitamines K.....	141
2.5. La vitamine F (les acides gras essentiels).....	143
2.5.1. Généralités	143
2.5.2. La structure chimique et les propriétés de la vitamine F	143
2.5.3. L'état naturel.....	144
2.5.4. Le métabolisme de la vitamine F	145
2.5.5. Des unités de l'activité vitaminique.....	151
2.5.6. Troubles de l'apport vitaminique.....	151
3. Les vitamines hydrosolubles.....	153
3.1. La vitamine B ₁ (thiamine, aneurine, la vitamine antibériberique, la vitamine antinévrétique)	153
3.1.1. Généralités	153
3.1.2. La structure chimique et les propriétés de la vitamine B ₁	154
3.1.3. L'état naturel.....	156
3.1.4. Le métabolisme de la thiamine	157

3.1.4.1. L'absorption de la thiamine	157
3.1.4.2. La phosphorylation de la thiamine	157
3.1.4.3. La diffusion de la thiamine	160
3.1.4.4. L'élimination de la thiamine	160
3.1.5. Le rôle biologique de la thiamine	161
3.1.5.1. Le rôle de la vitamine B ₁ dans la décarboxylation des acides α-kétoniques.....	161
3.1.5.2. Le rôle de la vitamine B ₁ dans les réactions de transfert du groupe acétyle	164
3.1.5.3. La thiamine et la maladie Alzheimer	164
3.1.5.4. La thiamine et le cancer	165
3.1.6. Des unités de l'activité vitaminique.....	165
3.1.7. Troubles de l'apport vitaminique.....	167
3.1.7.1. Les causes de la carence en thiamine.....	168
3.1.7.2. Les symptômes cliniques de la carence en thiamine.....	168
3.1.8. Anti vitamines B ₁	173
3.2. La vitamine B ₂ (riboflavine, la vitamine G)	174
3.2.1. Généralités	174
3.2.2. La structure chimique et les propriétés de la riboflavine	175
3.2.3. L'état naturel.....	177
3.2.4. Synthèse chimique de la riboflavine	178
3.2.5. Métabolisme de la riboflavine	180
3.2.5.1. L'absorption intestinale de la riboflavine	182
3.2.5.2. Transport plasmatique de la riboflavine.....	182
3.2.5.3. Élimination de la riboflavine.....	182
3.2.5.4. Le stockage et utilisation de la riboflavine.....	183
3.2.5.5. Le control thyroïdien du métabolisme de la riboflavine	184
3.2.6. Le rôle biologique de la riboflavine.....	184
3.2.6.1. Inter transformation riboflavine - FMN - FAD	184
3.2.6.2. Le rôle des coenzymes flaviniques dans la chaîne respiratoire....	186
3.2.6.3. Le rôle des cofacteurs flaviniques en catabolisme des acides gras et des acides amines	187
3.2.7. Les nécessités journalières de la vitamine B ₂	189
3.2.8. Troubles de l'apport vitaminique.....	191
3.2.9. Les groupes de risque	193
3.2.10. Antivitamines B ₂	193
3.3. La vitamine PP (niacine, nicotinamide, facteur pellagre-préventive, la vita- mine B ₃).....	194
3.3.1. Généralités	194
3.3.2. La structure chimique et les propriétés de la vitamine PP	195
3.3.3. L'état naturel.....	196
3.3.4. Métabolisme de la vitamine PP.....	197
3.3.4.1. L'absorption intestinale	197
3.3.4.2. La biosynthèse de la niacine	197
3.3.4.3. Circulation, répartition et l'activation de la niacine	202
3.3.4.4. Le catabolisme de la niacine	203

3.3.5. Le rôle biologique de la niacine.....	205
3.3.6. Les nécessités en vitamine PP.....	206
3.3.7. Troubles de l'apport vitaminique.....	207
3.3.8. Les groupes de risque	209
3.3.9. Synergie	209
3.3.10. Antivitamines PP	209
3.4. Acide folique (acide pteroil-glutamique, la vitamine B ₄ , la vitamine M).....	210
3.4.1. Généralités.....	210
3.4.2. La structure chimique et les propriétés d'acide folique	211
3.4.3. L'état naturel.....	211
3.4.4. Métabolisme d'acide folique	212
3.4.4.1. La biosynthèse du cycle pteridinique.....	213
3.4.4.2. La biosynthèse d'acide p-amino-benzoïque.....	213
3.4.4.3. La biosynthèse d'acide pteroiïque et d'acide folique.....	213
3.4.5. Le rôle biologique de l'acide folique	215
3.4.6. Les nécessités journalières en acide folique.....	218
3.4.7. Troubles de l'apport vitaminique.....	219
3.4.8. Des substances avec l'action antagoniste d'acide foliq	219
3.5. L'acide pantothénique (la vitamine B ₅) et la coenzyme A	220
3.5.1. Généralités	220
3.5.2. La structure chimique et les propriétés d'acide pantothénique	221
3.5.3. L'état naturel.....	222
3.5.4. Le métabolisme d'acide pantothénique	223
3.5.4.1. Biosynthèse d'acide pantothénique.....	223
3.5.4.2. L'absorption intestinale et le transport d'acide pantothénique	227
3.5.4.3. Le catabolisme d'acide pantothénique	229
3.5.5. Le rôle biologique de l'acide pantothénique.....	230
3.5.6. Les nécessités journalières en acide pantothénique	231
3.5.7. Troubles de l'apport vitaminique.....	232
3.5.8. Les groupes de risque	232
3.5.9. Des substances avec l'action antagoniste d'acide pantothénique	233
3.6. La vitamine B ₆ (pyridoxine, adermine)	233
3.6.1. Généralités.....	233
3.6.2. La structure chimique et les propriétés de la vitamine B ₆	234
3.6.3. L'état naturel.....	235
3.6.4. La synthèse chimique de la vitamine B ₆	236
3.6.5. Le métabolisme de la vitamine B ₆	236
3.6.5.1. La biosynthèse de la vitamine B ₆	237
3.6.5.2. L'absorption intestinale de la vitamine B ₆	238
3.6.5.3. La circulation et la répartition dans les tissus	238
3.6.5.4. L'activation de la vitamine B ₆ sous la forme de pyridoxal phosphate	239
3.6.5.5. Le catabolisme et l'élimination de la vitamine B ₆	240
3.6.6. Le rôle biologique de la vitamine B ₆	240
3.6.6.1. Décarboxylation des acides amines	242
3.6.6.2. Transamination des acides amines.....	245

3.6.6.3. Des autres réactions enzymatiques dans lesquelles est implique le pyridoxal-phosphate.....	250
3.6.7. Les nécessités journalières en vitamine B ₆	253
3.6.8. Troubles de l'apport vitaminique.....	253
3.6.8.1. Les manifestations cliniques et biochimiques de la hypovitaminose B ₆ expérimentale.....	254
3.6.8.2. Les causes de la hypovitaminose B ₆	254
3.6.8.3. Les maladies métaboliques pyridoxal-phosphate- dépendantes ..	254
3.6.8.4. L'hypervitaminose B ₆	257
3.6.9. Antivitamines B ₆	258
3.7. La biotine (la vitamine H, la vitamine B ₈ , la coenzyme R)	259
3.7.1. Généralités	259
3.7.2. La structure chimique et les propriétés de la biotine.....	259
3.7.3. L'état naturel.....	260
3.7.4. Le métabolisme de la biotine.....	262
3.7.4.1. La biosynthèse de la biotine.....	263
3.7.4.2. L'absorption intestinale	263
3.7.4.3. La circulation de la biotine.....	264
3.7.4.4. L'activation de la biotine	265
3.7.4.5. Le catabolisme de la biotine.....	266
3.7.5. Le rôle biologique de la biotine	266
3.7.5.1. Le mécanisme de carboxylation de la biotine	266
3.7.5.2. Les carboxylases biotine-dépendantes	267
3.7.6. Les nécessités journalières en biotine	271
3.7.7. Troubles de l'apport vitaminique.....	271
3.7.8. Les maladies métaboliques par déficit de carboxylases.....	272
3.7.9. Les groupes de risque	273
3.7.10. Antivitamines.....	274
3.8. La vitamine B ₁₂ (cobalamine, le facteur antipernicieuse).....	274
3.8.1. Généralités	274
3.8.2. La structure chimique et les propriétés de la vitamine B ₁₂	275
3.8.3. L'état naturel.....	276
3.8.4. Le métabolisme de la cobalamine.....	277
3.8.4.1. La biosynthèse de la vitamine B ₁₂	277
3.8.4.2. L'absorption intestinale de la vitamine B ₁₂	278
3.8.4.3. La circulation et la répartition tissulaire de la cobalamine.....	279
3.8.4.4. L'élimination de la vitamine B ₁₂ de l'organisme	280
3.8.5. Le rôle biologique de la cobalamine	280
3.8.5.1. Des enzymes cobalamine-dépendantes	281
3.8.5.2. Le rôle de la cobalamine en hématopoïèse	283
3.8.5.3. Le rôle de la cobalamine pour le système nerveuse	283
3.8.5.4. Les hypothèses physiopathologiques concernant le rôle de la cobalamine	283
3.8.6. Les nécessités journalières en cobalamine	284
3.8.7. Troubles de l'apport vitaminique.....	285
3.8.7.1. Les symptômes cliniques de l'hypovitaminose B ₁₂	285

3.8.7.2. Les symptômes hématologiques de l'hypovitaminose B ₁₂	286
3.8.7.3. Les maladies métabolique héréditaires	286
3.8.8. Antivitamines B ₁₂	287
3.9. L'acide lipoïque (l'acide thiocétique)	287
3.9.1. Généralités	287
3.9.2. La structure chimique et les propriétés de l'acide lipoïque.....	289
3.9.3. La synthèse chimique de l'acide lipoïque	289
3.9.4. Le métabolisme de l'acide lipoïque	290
3.9.4.1. L'absorption intestinale	290
3.9.4.2. La biosynthèse d'acide lipoïque.....	290
3.9.4.3. Catabolisme et élimination d'acide lipoïque	291
3.9.5. Le rôle biologique de l'acide lipoïque	291
3.9.6. Les nécessités journalières en acide lipoïque.....	295
3.9.7. Troubles de l'apport vitaminique.....	296
3.10. La vitamine C (acide ascorbique, la vitamine antiscorbutique)	296
3.10.1. Généralités.....	296
3.10.2. La structure chimique et les propriétés de la vitamine C.....	298
3.10.3. L'état naturel	300
3.10.4. Le métabolisme d'acide ascorbique	302
3.10.4.1. La biosynthèse et la synthèse chimique de la vitamine C ...	302
3.10.4.2. L'absorption intestinale d'acide ascorbique.....	304
3.10.4.3. Le catabolisme d'acide ascorbique	305
3.10.5. Le rôle biologique d'acide ascorbique	305
3.10.5.1. Le transport des protons et des électrons	306
3.10.5.2. La biosynthèse du collagène	306
3.10.5.3. La participation d'acide ascorbique aux autres réactions d'hydroxylation.....	307
3.10.5.4. La participation d'acide ascorbique a la biosynthèse de la quarnitine	307
3.10.5.5. L'implication de la vitamine C dans la biosynthèse des catéchol-amines.....	308
3.10.5.6. Le rôle de la vitamine C dans le métabolisme minéral	309
3.10.5.7. Le rôle de la vitamine C dans le réponse endocrinienne et allergique.....	309
3.10.5.8. L'interaction d'acide ascorbique avec les radicaux libres...	310
3.10.5.9. Le rôle d'acide ascorbique dans les fonctions immuno- logiques et antibactériennes	310
3.10.6. Les nécessités en acide ascorbique.....	311
3.10.7. Troubles de l'apport vitaminique	312
3.10.8. L'utilisation d'acide ascorbique en thérapie.....	314
3.10.9. Les groupes de risque	315
3.11. La vitamine P (bioflavonoïdes, la vitamine de la perméabilité).....	316
3.11.1. Généralités.....	316
3.11.2. La structure chimique et les propriétés de la vitamine P	316
3.11.3. Le rôle biologique de la vitamine P	316
3.12. Des autres substances avec action vitaminique.....	317

3.12.1. Ubiquinone (la coenzymă Q)	317
3.12.2. L'inositol.....	318
3.12.2.1. Généralités.....	318
3.12.2.2. La structure chimique et les propriétés de l'inositol.....	318
3.12.2.3. La biosynthèse de l'inositol.....	320
3.12.2.4. La carențe en inositol.....	321
3.12.3. Choline.....	322
3.12.3.1. Généralités	322
3.12.3.2. La structure chimique. Propriétés.....	323
3.12.3.3. Les sources naturelles de la choline	323
3.12.3.4. La biosynthèse de la choline	323
3.12.3.5. Le métabolisme et le rôle de choline pour l'organisme animal.....	325
3.12.3.6. Les symptômes de l'hypovitaminose	329
3.12.3.7. Les antagonistes de la choline.....	329
3.12.3.8. Les nécessités journalières en choline	329
3.12.4. Des autres vitamines du complexe B.....	330
4. Les vitamines et la nutrition.....	341
4.1. L'apport nutritionnelle.....	341
4.2. Les hypovitaminoses chez les groupes de risque.....	343
4.3. L'apport nutritionnelle des vitamines.....	344
5. La vitaminotherapie.....	348
5.1. Les interactions des vitamines avec les médicaments	348
5.1.1. Le traitement antituberculeuse.....	348
5.1.2. Le traitement anticonvulsivant.....	349
5.2. Les vitamines et le cancer.....	352

Deuxième partie LA BIOCHIMIE DES HORMONES

1. Le rôle des hormones dans les organismes vivantes.....	369
1.1. La définition et la classification des hormones.....	369
1.2. La biosynthèse, la sécrétion, le transport et la dégradation des hormones	377
1.3. Les récepteurs des hormones.....	383
1.4. Les mécanismes généraux d'action des hormones	390
2. Les hormones des vertébrés.....	398
2.1. Les hormones polypeptidiques et protéiques.....	398
2.1.1. Les hormones régulatrices d'hypothalamus.....	398
2.1.2. Hormones hypophysaires.....	404
2.1.2.1. Les hormones de l'antéhypophyse.....	404
2.1.2.1.1. L'hormone de la croissance	404
2.1.2.1.2. Prolactine	407
2.1.2.1.3. Les hormones gonadotropes	408
2.1.2.1.4. L'hormone thyroïdienne.....	411
2.1.2.1.5. Hormones dérivées de pre-opiomélanocortine	411
2.1.2.2. Les hormones de l'hypophyse intermédiaire	415
2.1.2.3. Les hormones de la post-hypophysaires	418

2.1.2.3.1. Vasopressine.....	418
2.1.2.3.2. Ocytocine.....	420
2.1.2.3.3. Les hormones de la post-hypophysaires et le comportement.....	422
2.1.2.3.4. Les neurofisines.....	422
2.1.3. Les hormones du pancréas.....	423
2.1.3.1. Insuline.....	424
2.1.3.2. Glucagon.....	431
2.1.4. Hormones parathyroïdiennes.....	433
2.1.4.1. La calcitonine et les vitamines D.....	435
2.1.5. Les hormones du thymus.....	437
2.1.6. Les hormones gastro-intestinales.....	438
2.1.7. L'érythropoïétine.....	439
2.1.8. La cœur – organe endocrinien?.....	441
2.1.9. La biosynthèse et les mécanismes d'action des hormones polypepti- diques.....	442
2.2. Les hormones dérivées d'acides aminées.....	445
2.2.1. Les hormones de la thyroïde.....	445
2.2.2. Les hormones médullo-surrénaliennes.....	463
2.2.2.1. Le métabolisme des catécholamines.....	463
2.2.2.2. Le rôle biologique des catécholamines.....	471
2.2.2.3. Régulation de l'activité médullo-surrénaliennes.....	472
2.2.3. Hormone de l'épiphyse.....	473
2.2.3.1. Métabolisme de la mélatonine.....	473
2.2.3.2. Le rôle biologique de la mélatonine.....	475
2.3. Hormones stéroïdiennes.....	476
2.3.1. Hormones du cortex surrénalienne.....	477
2.3.2. Hormones gonadiques.....	497
2.3.2.1. Hormones sexuels masculins (les androgènes).....	497
2.3.2.2. Hormones sexuels féminines.....	511
2.4. Les hormones tissulaires.....	522
2.4.1. Les véritables hormones tissulaires.....	523
2.4.2. Neurotransmetteurs.....	527
2.3. Hormones dérivés d'acides gras.....	531
2.3.1. Prostaglandines (PG).....	531
2.3.2. Les thromboxanes (TX).....	533
2.3.3. Leucotriènes (LT).....	534
3. Les hormones des invertébrés.....	535
3.1. Hormones des crustacées.....	537
3.2. Hormones des insectes.....	538
4. Phytohormones.....	541
ANEXES.....	549
Bibliographie.....	557

CONTENTS

Preface	29
Abbreviations	31

Part I BIOCHEMISTRY OF VITAMINS

1. Brief historical survey. General remarks	35
2. Liposoluble vitamins	40
2.1. Vitamin A (retinol, antixerophthalmic vitamin, vitamin of growth)	40
2.1.1. General remarks	40
2.1.2. Chemical structure of provitamins and vitamins A	41
2.1.3. Natural occurrence	48
2.1.4. Properties of provitamins and vitamins A	50
2.1.5. Metabolism of vitamins A	50
2.1.6. Chemical synthesis of vitamin A	61
2.1.7. Biological role of vitamins A	62
2.1.8. Units of A vitaminic activity and nutritional requirements	67
2.1.9. Disorders of vitaminic contribution	69
2.1.10. Groups of risk	73
2.1.11. Synergism	73
2.1.12. Synthetic derivatives of vitamin A	73
2.1.13. Antivitamins A	76
2.2. Vitamin D (calciferol, the antirachitic vitamin)	77
2.2.1. General remarks	77
2.2.2. Chemical structure of provitamins and vitamins D	78
2.2.3. Natural occurrence	83
2.2.4. Metabolism of provitamins and vitamins D	84
2.2.4.1. Transformation of provitamins and vitamins D	84
2.2.4.2. Intestinal absorption	85
2.2.4.3. Catabolism and elimination of calciferols and of their derivatives	88
2.2.5. The biological role of calciferols	91
2.2.6. Units of vitaminic activity. Nutritional necessity	94
2.2.7. Disorders of vitaminic contribution	95
2.2.8. Groups of risk	100
2.2.9. Synergism	100
2.2.10. Drug interferences	100
2.2.11. Antivitamins D	101

2.3. Vitamin E (tocopherols, vitamin of antisterility, vitamin of fertility, vitamin of reproduction).....	104
2.3.1. General remarks.....	104
2.3.2. Chemical structure and proprieties of tocopherols.....	104
2.3.3. Natural occurrence.....	108
2.3.4. Chemical synthesis of tocopherols.....	109
2.3.5. Metabolism of tocopherols.....	110
2.3.6. Biological role of tocopherols.....	111
2.3.7. Units of vitaminic activity and nutritional necessity.....	116
2.3.8. Disorders of vitaminic contribution.....	117
2.3.9. Groups of risk.....	121
2.3.10. Substances with antagonistic action.....	121
2.4. Vitamin K (philoquinones, vitamin of coagulation, antihemorrhagic vitamin, the prothombinic factor).....	122
2.4.1. General remarks.....	122
2.4.2. Chemical structure and properties of vitamins K.....	122
2.4.3. Natural occurrence.....	124
2.4.4. Chemical synthesis of vitamins K.....	125
2.4.5. Metabolism of vitamins K.....	127
2.4.5.1. Intestinal absorption of vitamins K.....	128
2.4.5.2. Hepatic degradation of vitamins K.....	128
2.4.6. Biological role of vitamins K.....	129
2.4.6.1. The role of vitamins K in blood coagulation.....	129
2.4.6.2. The role of vitamin K in tissular oxidoreductions and in other enzymatic activities.....	134
2.4.7. Units of vitaminic activity.....	136
2.4.8. Disorders of vitaminic contribution.....	137
2.4.8.1. Functional exploring of the disorders of vitaminic contribution..	137
2.4.8.2. Hypovitaminosis K.....	139
2.4.8.3. Hypervitaminosis K.....	140
2.4.9. Groups of risk.....	141
2.4.10. Antivitamins K.....	141
2.5. Vitamin F (essential fatty acids).....	143
2.5.1. General remarks.....	143
2.5.2. Chemical structure and properties of vitamin F.....	143
2.5.3. Natural occurrence.....	144
2.5.4. Metabolism of vitamin F.....	145
2.5.5. Units of activity.....	151
2.5.6. Disorders of vitaminic contribution.....	151
3. Hydrosoluble vitamins.....	153
3.1. Vitamin B ₁ (thiamine, aneurine, antiberiberi vitamin, antinevritic vitamin)....	153
3.1.1. General remarks.....	153
3.1.2. Chemical structure and properties of vitamin B ₁	154
3.1.3. Natural occurrence.....	156
3.1.4. Metabolism of thiamine.....	157
3.1.4.1. Absorption of thiamine.....	157
3.1.4.2. Phosphorylation of thiamine.....	157

3.1.4.3.	Difusion of thiamine	160
3.1.4.4.	Elimination of thiamine	160
3.1.5.	Biological role of thiamine	161
3.1.5.1.	Role of vitamin B ₁ in α -cetoacid decarboxylation	161
3.1.5.2.	Role of vitamin B ₁ in transacetylation reactions	164
3.1.5.3.	Thiamine and the Alzheimer disease	164
3.1.5.4.	Thiamine and the cancroids disease	165
3.1.6.	Units of activity	165
3.1.7.	Disorders of vitaminic contribution	167
3.1.7.1.	Causes of thiaminic deficiency	168
3.1.7.2.	Clinical symptoms of thiaminic deficiency	168
3.1.8.	Antivitamins B ₁	173
3.2.	Vitamin B ₂ (riboflavin, vitamin G)	174
3.2.1.	General remarks	174
3.2.2.	Chemical structure and properties of riboflavin	175
3.2.3.	Natural occurrence	177
3.2.4.	Chemical synthesis of riboflavin	178
3.2.5.	Metabolism of riboflavin	180
3.2.5.1.	Intestinal absorption of riboflavin	182
3.2.5.2.	Plasmatic transport of riboflavin	182
3.2.5.3.	Elimination of riboflavin	182
3.2.5.4.	Storage and utilization of riboflavin	183
3.2.5.5.	Thyroid control of riboflavin metabolism	184
3.2.6.	Biological role of riboflavin	184
3.2.6.1.	Riboflavin – FMN – FAD intertransformation	184
3.2.6.2.	Role of flavinic coenzymes in the breathing chain	186
3.2.6.3.	Role of flavinic cofactors in the catabolism of fatty acids and aminoacids	187
3.2.7.	Necessity of vitamin B ₂	189
3.2.8.	Disorders of vitaminic contribution	191
3.2.9.	Groups of risk	193
3.2.10.	Antivitamins B ₂	193
3.3.	Vitamin PP (niacin, pellagro-preventive factor, vitamin B ₃)	194
3.3.1.	General remarks	194
3.3.2.	Chemical structure and properties of vitamin PP	195
3.3.3.	Natural occurrence	196
3.3.4.	Metabolism of vitamin PP	197
3.3.4.1.	Intestinal absorption	197
3.3.4.2.	Biosynthesis of niacin	197
3.3.4.3.	Circulation, distribution and activation of niacin	202
3.3.4.4.	Catabolism of niacin	203
3.3.5.	Biological role of niacin	205
3.3.6.	Necessity of vitamin PP	206
3.3.7.	Disorders of vitaminic contribution	207
3.3.8.	Groups of risk	209
3.3.9.	Synergism	209
3.3.10.	Antivitamins PP	209

3.4. Folic acid (pteroylglutamic acid, vitamin B ₄ , vitamin M)	210
3.4.1. General remarks	210
3.4.2. Chemical structure and properties of folic acid	211
3.4.3. Natural occurrence	211
3.4.4. Metabolism of folic acid	212
3.4.4.1. Biosynthesis of the pteridinic cycle	213
3.4.4.2. Biosynthesis of the p-aminobenzoic acid	213
3.4.4.3. Biosynthesis of the pteric and folic acid	213
3.4.5. Biological role of folic acid	215
3.4.6. Necessity of folic acid	218
3.4.7. Disorders of vitaminic contribution	219
3.4.8. Substances with antagonistic action	219
3.5. The pantothenic acid (vitamin B ₅) and coenzyme A	220
3.5.1. General remarks	220
3.5.2. Chemical structure and properties of pantothenic acid	221
3.5.3. Necessity of pantothenic acid	222
3.5.4. Metabolism of pantothenic acid	223
3.5.4.1. Biosynthesis of pantothenic acid	223
3.5.4.2. Intestinal absorption and transport of pantothenic acid	227
3.5.4.3. Catabolism of pantothenic acid	229
3.5.5. Biological role of pantothenic acid	230
3.5.6. Necessity of pantothenic acid	231
3.5.7. Disorders of vitaminic contribution	232
3.5.8. Group of risk	232
3.5.9. Substances with antagonistic action	233
3.6. Vitamin B ₆ (pyridoxine, adermine)	233
3.6.1. General remarks	233
3.6.2. Chemical structure and properties of vitamin B ₆	234
3.6.3. Natural occurrence	235
3.6.4. Chemical synthesis of vitamin B ₆	236
3.6.5. Metabolism of vitamin B ₆	236
3.6.5.1. Biosynthesis of vitamin B ₆	237
3.6.5.2. Intestinal absorption of vitamin B ₆	238
3.6.5.3. Circulation and distribution in tissues	238
3.6.5.4. Activation of vitamin B ₆ as a pyridoxal – phosphate	239
3.6.5.5. Catabolism and elimination of vitamin B ₆	240
3.6.6. Biological role of vitamin B ₆	240
3.6.6.1. Decarboxylation of aminoacids	242
3.6.6.2. Transamination of aminoacids	245
3.6.6.3. Other chemical reactions involving pyridoxal – phosphate	250
3.6.7. Necessity of vitamin B ₆	253
3.6.8. Disorders of vitaminic contribution	253
3.6.8.1. Clinical and biochemical manifestations of experimental hypovitaminosis B ₆	254
3.6.8.2. Causes of hypovitaminosis B ₆	254
3.6.8.3. Pyridoxal – phosphate – dependent metabolic diseases	257
3.6.8.4. Hypervitaminosis B ₆	258
3.6.9. Antivitamins B ₆	258

3.7. Biotin (vitamin H, vitamin B ₈ , coenzyme R).....	259
3.7.1. General remarks.....	259
3.7.2. Chemical structure and properties of biotin.....	259
3.7.3. Natural occurrence.....	260
3.7.4. Metabolism of biotin.....	262
3.7.4.1. Biosynthesis of biotin	263
3.7.4.2. Intestinal absorption.....	263
3.7.4.3. Circulation of biotin.....	264
3.7.4.4. Activation of biotin.....	265
3.7.4.5. Catabolism of biotin.....	266
3.7.5. Biological role of biotin.....	266
3.7.5.1. Mechanism of biotin carboxylation	266
3.7.5.2. Biotin-dependent carboxylases	267
3.7.6. Necessity of biotin.....	271
3.7.7. Disorders of vitaminic contribution.....	271
3.7.8. Metabolic diseases caused by deficit of carboxylases	272
3.7.9. Groups of risk	273
3.7.10. Antivitamins	274
3.8. Vitamin B ₁₂ (cobalamin, the antipernicious factor).....	274
3.8.1. General remarks.....	274
3.8.2. Chemical structure and properties of vitamin B ₁₂	275
3.8.3. Natural occurrence.....	276
3.8.4. Metabolism of vitamin B ₁₂	277
3.8.4.1. Biosynthesis of vitamin B ₁₂	277
3.8.4.2. Intestinal absorption of vitamin B ₁₂	278
3.8.4.3. Tissular circulation and distribution of vitamin B ₁₂	279
3.8.4.4. Elimination of vitamin B ₁₂ from the organism.....	280
3.8.5. Biological role of cobalamin	280
3.8.5.1. Cobalamin – dependent enzymes.....	281
3.8.5.2. Role of cobalamin in hematopoiesis	283
3.8.5.3. Role of cobalamin in the nervous system	283
3.8.5.4. Physiopathological hypotheses in the role of cobalamin	283
3.8.6. Necessity of biotin.....	284
3.8.7. Disorders of vitaminic contribution.....	285
3.8.7.1. Clinical symptomatology of hypovitaminosis B ₁₂	285
3.8.7.2. Hematological symptomatology of hypovitaminosis B ₁₂	286
3.8.7.3. Hereditary metabolic maladies.....	286
3.8.8. Antivitamins B ₁₂	287
3.9. The lipoic acid (thioctic acid).....	287
3.9.1. General remarks.....	287
3.9.2. Chemical structure and properties of lipoic acid.....	289
3.9.3. Chemical synthesis of lipoic acid	289
3.9.4. Metabolism of lipoic acid	290
3.9.4.1. Intestinal absorption.....	290
3.9.4.2. Biosynthesis of lipoic acid	290
3.9.4.3. Catabolism and elimination of lipoic acid.....	291

3.9.5. Biological role of lipoic acid	291
3.9.6. Necessity of lipoic acid.....	295
3.9.7. Disorders of vitaminic contribution.....	296
3.10. Vitamin C (ascorbic acid, antiscorbutic vitamin)	296
3.10.1. General remarks	296
3.10.2. Chemical structure and properties of vitamin C.....	298
3.10.3. Natural occurrence	300
3.10.4. Metabolism of vitamin C.....	302
3.9.4.2. Biosynthesis of and chemical synthesis of vitamin C	302
3.10.4.2. Intestinal absorption of vitamin C.....	304
3.10.4.3. Catabolism of vitamin C	305
3.10.5. Biological role of vitamin C.....	305
3.10.5.1. Transport of protons and electrons	306
3.10.5.2. Collagen biosynthesis	306
3.10.5.3. Participation of ascorbic acid in other hydroxylation reactions	307
3.10.5.4. Participation of ascorbic acid to the biosynthesis of carnitine ..	307
3.10.5.5. Involvement of vitamin C in the biosynthesis of catechola- mines.....	308
3.10.5.6. Role of vitamin C in mineral metabolism	309
3.10.5.7. Role of vitamin C in the endocrine and allergic response...	309
3.10.5.8. Interaction of ascorbic acid with free radicals.....	310
3.10.5.9. Role of ascorbic acid in immunological and antibacterial functions.....	310
3.10.6. Necessity of vitamin C.....	311
3.10.7. Disorders of vitaminic contribution.....	312
3.10.8. Utilization of ascorbic acid for therapeutical ends	314
3.10.9. Groups of risk.....	315
3.11. Vitamin P (bioflavonoids, vitamin of permeability)	316
3.11.1. General remarks	316
3.11.2. Chemical structure and properties of vitamin P	316
3.11.3. Biological role of vitamin P	316
3.12. Other substances with vitaminic action	317
3.12.1. Ubiquinone (coenzyme Q)	317
3.12.2. Mesoinositol.....	318
3.12.2.1. General remarks	318
3.12.2.2. Chemical structure and properties of mesoinositol	318
3.12.2.3. Biosynthesis of inositol	320
3.12.2.4. Inositol deficiency.....	321
3.12.3. Choline	322
3.12.3.1. General remarks	322
3.12.3.2. Chemical structure. Properties	323
3.12.3.3. Occurrence of choline in natural products	323
3.12.3.4. Synthesis of choline	323
3.12.3.5. Metabolism and role of choline in animal organism.....	325
3.12.3.6. Symptoms of cholinic deficiency.....	329

3.12.3.7. Antagonists of choline	329
3.12.3.8. Daily necessity of choline	329
3.12.4. Other vitamins of complex B	330
4. Vitamins and nutrition	341
4.1. Nutritional necessity	341
4.2. Hypovitaminoses in the groups of risk	343
4.3. Nutritional necessity of vitamins	344
5. Vitaminotherapy	348
5.1. Vitamins and medicinal interactions	348
5.1.1. Antituberculosis treatment	348
5.1.2. Anticonvulsive treatment	349
5.2. Vitamins and cancer	352

Part II BIOCHEMISTRY OF HORMONES

1. The role of hormones in the living organisms	369
1.1. Definition and classification of hormones	369
1.2. Biosynthesis, secretion, transport and degradation of hormones	377
1.3. Hormones receptors	383
1.4. General mechanisms of hormones actions	390
2. Hormones of vertebrates	398
2.1. Hormones with polypeptidic and proteic structure	398
2.1.1. Hypothalamus regulating hormones	398
2.1.2. Hormones of pituitary	404
2.1.2.1. Hormones of anterior pituitary	404
2.1.2.1.1. The hormone of growth	404
2.1.2.1.2. Prolactine	407
2.1.2.1.3. The gonadotropic hormones	408
2.1.2.1.4. The tireotropic hormone	411
2.1.2.1.5. Hormones derived from pre-opiomelanocortine	411
2.1.2.2. Hormones of the intermediary pituitary	415
2.1.2.3. Neuro-hypophysis hormones	418
2.1.2.3.1. Vasopressin	418
2.1.2.3.2. Ocitocine	420
2.1.2.3.3. Neurohypophysis hormones and the behaviour	422
2.1.2.3.4. Neurophysines	422
2.1.3. Pancreatic hormones	423
2.1.3.1. Insulin	424
2.1.3.2. Glucagon	431
2.1.4. Hormones of the parathyroid gland	433
2.1.4.1. Calcitonines and vitamin D	435
2.1.5. Hormones of the thymus gland	437
2.1.6. Gastrointestinal hormones	438
2.1.7. Erythropoietin	439
2.1.8. Hearth – an endocrine organ?	441
2.1.9. Biosynthesis and mechanisms of action of polypeptidic hormones	442

2.2. Hormones derived from aminoacids.....	445
2.2.1. Hormones of the thyroid gland.....	445
2.2.2. Hormones of the medulosuprarenal gland.....	463
2.2.2.1. Metabolism of catecholamines.....	463
2.2.2.2. Biological role of catecholamines.....	471
2.2.2.3. Regulation of the medulosuprarenal gland activity.....	472
2.2.3. Hormone of the epiphysis.....	473
2.2.3.1. Metabolism of melatonin.....	473
2.2.3.2. Biological role of melatonin.....	475
2.3. Hormones with steroidic structure.....	476
2.3.1. Hormones of the corticosuprarenal gland.....	477
2.3.2. Gonadal hormones.....	497
2.3.2.1. Masculine (androgeneous) sexual hormones.....	497
2.3.2.2. Feminine sexual hormones.....	511
2.4. Tissular hormones.....	522
2.4.1. Tissular hormones as such.....	523
2.4.2. Neurotransmitters.....	527
2.3. Hormones derived from the fatty acids.....	531
2.3.1. Prostaglandines (PG).....	531
2.3.2. Throboxanes (TX).....	533
2.3.3. Leukotryenes (LT).....	534
3. Hormones of invertebrates.....	535
3.1. Hormones of crustaceans.....	537
3.2. Hormones of insects.....	538
4. Hormones of plants.....	541
APPENDICES.....	549
References.....	557

PREFAȚĂ

Una din sarcinile fundamentale ale biochimiei moderne o constituie elucidarea mecanismelor de reglare și adaptare a proceselor biochimice în organismele vii. Printre aceste mecanisme de o importanță deosebită se numără și cele în care intervin vitaminele, hormonii și enzimele ce asigură stările de echilibru atât de necesare vieții și care acționează la diferite nivele de organizare a sistemelor biologice. Studiul mecanismelor moleculare de reglare a proceselor metabolice, precum și studiul simptomelor clinice datorate unor modificări ale acestor procese prezintă o importanță deosebită, atât din punct de vedere fundamental cât și aplicativ.

Elucidarea structurii chimice și a mecanismului de acțiune ale acestor compuși biologic activi permite obținerea unei imagini concrete a ansamblului proceselor biochimice ce au loc în celula vie, elucidarea cauzelor anumitor dereglări și disfuncționalități la nivel molecular, coroborate cu simptomele clinice caracteristice acestor dereglări, dând posibilitatea instituirii tratamentului medical adecvat pentru înlăturarea sau, cel puțin, pentru ameliorarea acestor simptome. Pe de altă parte, unele din aceste substanțe sunt și medicamente importante, a căror utilizare în terapeutică se diversifică din ce în ce mai mult, fie sub forma preparatelor naturale extrase și purificate din diferite surse biologice, fie sub forma unor produși de semisinteză sau sinteză chimică.

Lucrarea de față cuprinde două părți principale. În prima parte sunt tratate principalele aspecte referitoare la biochimia vitaminelor: definiția vitaminelor, scurt istoric al studiului acestor principii active, clasificarea vitaminelor etc. În continuare sunt analizate succesiv toate vitaminele cunoscute în prezent sub aspectul structurii chimice a provitaminelor și vitaminelor, starea lor naturală cu enumerarea principalelor produse alimentare bogate în vitamine, proprietățile vitaminelor și ale precursorilor lor, biosinteza și degradarea vitaminelor, obținerea de preparate vitaminice prin sinteză chimică, funcțiile biologice ale vitaminelor și tulburările patologice de aport vitaminic, grupele de risc în apariția hipovitaminozelor și avitaminozelor, antivitamine etc.

Partea a doua a lucrării este consacrată biochimiei hormonilor și analizează principalele aspecte privind definiția și clasificarea hormonilor, structura chimică, biosinteza și degradarea acestora, modul lor de acțiune și principalele simptome ale hipo- și hipersecreției glandulare. Aspectele pur fiziologice și medicale sunt tratate extrem de succint, ele făcând obiectul fiziologiei umane, animale și vegetale, respectiv științelor medicale. Sunt tratate mai amplu aspectele pur biochimice, studiate de biochimia modernă, aspecte ce fac obiectul unei ramuri a endocrinologiei pe care o putem numi, fără riscul de a greși, *endocrinologie biochimică*.

Cartea se adresează în primul rând studenților de la specializările *Biochimie, Biochimie tehnologică, Biologie, Medicină, Farmacie, Medicină veterinară, Fizică medicală, Biotehnologie, Biofizică* etc., dar și specialiștilor cu preocupări în aceste domenii. Am fi deosebit de recunoscători specialiștilor și studenților din domeniile menționate mai sus pentru eventualele observații și sugestii referitoare la concepția și conținutul prezentei lucrări.

Iași, 2010

Autorii

ABREVIERI

În această lucrare s-au folosit o serie de abrevieri, standardizate la nivel mondial, pentru hormoni și diferite substanțe biologice active implicate în transportul și mecanismele de acțiune ale hormonilor.

Abp	– androgen binding protein
ACTH	– corticotropina (<i>adrenocorticotropic hormone</i>)
ADH	– hormonul antidiuretic (<i>antidiuretic hormone</i>)
AMP	– acid adenzozin-5'-monofosforic
AMPc	– acid adenzozin-5'-monofosforic ciclic
Bp	– proteină de legare (<i>binding protein</i>)
CaBp	– proteina calcipexică (<i>calcium binding protein</i>)
CCK-PZ	– colecistokinină-pancreozimină
CGH	– hormonul corionic gonadotrofic uman (<i>human chorionic gonadotrophin</i>)
C-RH	– corticoliberina (<i>corticotrophin releasing hormone</i>)
DHA	– dihidroepiandrosteron
DHT	– dihidrotestosteron
DIT	– diiodtirozină
DOC	– deoxicorticosteron
Ebp- α -Fp	– α -fetoproteină
Egf	– factor epidermic de creștere (<i>epiderm growth factor</i>)
Fgf	– factor de creștere fibroblastică (<i>fibroblast growth factor</i>)
FSH	– hormonul foliculostimulant (<i>follicle stimulating hormone</i>)
GH	– hormonul de creștere sau somatotropină (<i>growth hormone</i>)
GH-RH	– somatoliberina (<i>growth releasing hormone</i>)
GH-IH	– somatostatina (<i>growth inhibiting hormone</i>)
LH	– hormonul luteinizant (<i>luteinizing hormone</i>)
LH-RH	– liberina hormonului luteinizant (<i>luteinizing releasing hormone</i>)
LPH	– hormonul lipotrop (<i>lipotropic hormone</i>)
MAO	– monoaminoxidază

Mcr	– clearance metabolic (<i>metabolic clearance rate</i>)
MIT	– monoiodotirozină
MSH (α, β)	– hormoni melanotropi (<i>melanocyte stimulating hormones</i>)
NP	– neurofisină
E ₁ (O ₁)	– estronă (<i>oestrone</i>)
E ₂ (O ₂)	– estradiol (<i>oestradiol</i>)
E ₃ (O ₃)	– estriol (<i>oestriol</i>)
Pbp	– proteină plasmatică ce leagă progesteronul (<i>progesterone binding plasma protein</i>)
Pg	– prostaglandine
PLH	– hormon placentar lactogen uman
PRO (PRL)	– prolactină (<i>prolactine</i>)
PRL-RH	– prolactoliberina (<i>prolactin releasing hormone</i>)
PRL-IH	– prolactostatina (<i>prolactin inhibiting hormone</i>)
PTH	– parathormonul (<i>parathormone</i>)
Sbp	– proteină plasmatică ce leagă hormonii sexuali (<i>sex steroid binding plasma protein</i>)
T	– testosteron
T ₃	– triiodtironină
T ₄	– tetraiodtironină sau tiroxină
Tbg	– globulină ce leagă tiroxina (<i>thyroxine binding globulin</i>)
TGB	– tiroglobulină
T-RH	– tireoliberina (<i>thyrotropin releasing hormone</i>)
TSH	– hormon tireotrop sau tireotropină (<i>thyroid stimulating hormone</i>)
VP	– vasopresină

1. SCURT ISTORIC GENERALITATI

PARTEA I

BIOCHIMIA VITAMINELOR

1. SCURT ISTORIC. GENERALITĂȚI

Vitaminele reprezintă o clasă de substanțe organice extrem de eterogenă din punct de vedere structural, cu rol de biocatalizatori, care sunt necesare organismelor vii în cantități foarte mici, dar care sunt indispensabile funcțiilor vitale.

Denumirea de „vitamină” a fost utilizată pentru prima dată în 1912 de către *K. Funk* care denumeste astfel extractul obținut din tărâțele de orez, extract pe care l-a folosit la tratarea păsărilor bolnave de polinevrită. După descoperirea mai multor vitamine în prima jumătate a secolului XX, s-a constatat că nu toate aceste substanțe conțineau grupări aminice și, ca atare, această denumire este improprie. Fiind însă deja intrată în uz, continuă să fie utilizată și astăzi.

Simptomele unor carențe vitaminice au fost cunoscute și descrise de foarte mult timp fără a se cunoaște însă cauza acestora. Astfel, diminuarea acuității vizuale a fost descrisă acum 3500 de ani, iar *Hippocrate* descrie simptomele scorbutului. Aceleași simptome sunt descrise și la soldații romani, precum și la marinarii lui Vasco da Gama.

Egiptenii antici știau că dacă hrăneau un pacient cu ficat, acesta se va vindeca de „orbirea de noapte”, acum știindu-se că această boală este cauzată de o deficiență de vitamina A. În 1747, chirurgul scoțian *James Lind* a descoperit că citricele și preparatele din ele previn scorbutul, o boală letală în care collagenul nu se formează corect și care se caracterizează prin vindecări lente, sângerări ale gingiilor și dureri acute. În 1753, Lind publică „*Tratat asupra Scorbutului*”, descoperirea sa nefiind totuși unanim acceptată.

În expedițiile Marinei Regale din secolul XIX, se credea că scorbutul este prevenit de o igienă bună la bordul navei, exerciții fizice regulate și menținerea moralului ridicat al echipajului, în locul unei diete bazată pe mâncare proaspătă.

În acea perioadă, când *Robert Falcon Scott* a făcut cele două expediții în Antarctica la începutul secolului XX, teoria medicală general acceptată era că scorbutul este cauzat de consumul conservelor contaminate.

În 1881, chirurgul rus *Nikolai Lunin* a hrănit un lot de șoareci cu un amestec artificial format din toți constituenții laptelui cunoscuți la momentul respectiv, adică proteine, grăsimi, carbohidrați și săruri. Aceștia au murit, în timp ce șoarecii hrăniți cu lapte s-au dezvoltat normal. Ulterior, s-a formulat o concluzie conform căreia „*un aliment natural ca laptele trebuie deci să conțină, pe lângă ingredientele principale cunoscute, mici cantități de substanțe necunoscute, esențiale vieții*”.

Concluzia formulată de Lunin a fost respinsă de ceilalți cercetători care nu au putut să reproducă rezultatele experimentelor sale. Diferența a constat în aceea că el a folosit zahăr normal (zaharoză), în timp ce ceilalți cercetători au folosit zahăr din lapte (lactoză) care mai conținea încă mici cantități de vitamină B.

Primele observații științifice s-au făcut începând cu anul 1890 când, la soldații din Indiile Olandeze s-a înregistrat o incidență foarte crescută (25%) a îmbolnăvirilor de beri-beri. Corelând această rată crescută a bolii cu faptul că hrana soldaților era formată preponderent din orez decortecat, medicul *Eijkman* face unele experimente pe găini arătând că păsările hrănite numai cu orez decortecat se îmbolnăveau de polinevrită. Faptul că simptomele bolii dispăreau după adăugarea în hrană a tărâțelor l-a determinat pe *Eijkman* să atribuie cauza bolii unor factori nutritivi și nu unui microbiologic.

În paralel, în 1905, *William Fletcher* a descoperit că prin consumarea orezului nedecortecat în locul celui decortecat se prevenea boala beri-beri. În anul următor, *Frederick Hopkins* a afirmat că alimentele conțin „*factori accesorii*” pe lângă proteine, carbohidrați, grăsimi etc. care sunt necesari corpului uman.

În 1907, *Axel Holst* și *Theodor Frolich*, doi biochimisti norvegieni, care studiau beri-beri contractată la bordul navelor din Flota de Pescuit Norvegiană, au vrut ca un mic mamifer de teste să înlocuiască porumbeii pe care îi folosiseră. Au hrănit porcușorii de Guineea cu hrana de test, care produsese beri-beri la porumbei și au fost surprinși când, în locul acesteia a apărut scorbutul. Până atunci, scorbutul nu fusese observat la nici un alt organism în afară de oameni, fiind considerat o boală exclusiv umană.

Pornind de la aceste constatări, *Funk* reușește în 1911 să izoleze principiul activ antinevritic din tărâțele de orez pe care îl numește „*vitamină*” (*amina vieții*).

Cercetări de amploare au demarat câțiva ani mai târziu când starea sanitară și nutriția popoarelor s-au înrăutățit brusc în urma izbucnirii primei conflagrații mondiale și a crizelor care au urmat. Astfel, în Danemarca, în

urma înlocuirii untului cu margarina, un mare număr de copii se îmbolnăveau de xeroftalmie, iar în Berlin și Viena, în perioada 1919–1922 trei sferturi din copiii de până la trei ani prezentau rahitism (Kolotilova et al., 1976).

La începutul anilor 1900, oamenii de știință au fost capabili să izoleze și să identifice un număr de vitamine. Inițial fracțiunea lipidică din uleiul de pește a fost folosită pentru vindecarea rahitismului la șobolani, iar nutrientul liposolubil a fost numit „*factor antirahitic A*”. Între timp, numele a fost schimbat, el devenind vitamina D, care este subiectul dezbatărilor pe tema faptului că aceasta nu este într-adevăr o vitamină, fiind un derivat steroid.

În 1913, *Elmer McCollum*, un biochimist de la Universitatea Wisconsin și colega lui, *Merguerite Davis*, au identificat un nutrient liposolubil în grăsimile din lapte și uleiul de ficat de cod, pe care l-au denumit „*fat-man factor A*”. Munca lor a confirmat-o pe cea a lui *Thomas Osborne* și *Lafayette Mendel*, de la Universitatea Yale, care au sugerat existența unui nutrient solubil în grăsimi găsit în lapte, tot în 1913. În 1931 i-a fost determinată structura chimică de către *Karrer*, iar în 1947 a fost sintetizat chimic pentru prima dată.

În perioada 1928–1933, echipa de cercetători maghiari compusă din *Joseph L. Svirbely* și *Albert Szent-Györgyi* și, independent, americanul *Charles Glen King*, au izolat pentru prima dată vitamina C și au arătat că aceasta este acidul ascorbic.

În 1928, antropologul arctic *Vilhjalmur Stefansson* a încercat să demonstreze teoria sa conform căreia eschimoșii sunt capabili să evite scorbutul fără aproape nici o plantă în dieta lor. Acest lucru a fost mereu pus sub semnul întrebării, deoarece boala i-a lovit pe exploratorii arctici europeni care supraviețuiau cu aceleași diete bogate în carne. Stefansson a presupus că popoarele native din Arctica își preluau necesarul de vitamină C din carnea crudă sau gătită foarte puțin. Începând din februarie 1928, timp de un an, el și un coleg de-al său au trăit având ca hrană doar carne crudă, sub supraveghere medicală la Spitalul Bellevue din New York, rămânând sănătoși.

În 1933–1934, chimiștii britanici *Walter Norman Haworth* și *Edmund Hirst* și, independent, polonezul *Tadeus Reichstein*, au reușit să sintetizeze vitamina, fiind prima creată artificială. Acest lucru a făcut posibilă producerea industrială și, în același timp, ieftină a vitaminei C. Pentru aceasta, Haworth a primit în 1937 premiul Nobel pentru Chimie.

În 1959, americanul *J.J. Burns* a arătat că motivul pentru care unele mamifere sunt susceptibile scorbutului este imposibilitatea ficatului lor de a produce o enzimă activă numită *L-gulonolacton-oxidază*, care este ultima din cele patru enzime ce intervin în biosinteza acidului ascorbic. Biochimistul american *Irwin Stone* a fost primul care a exploatat vitamina C pentru proprietățile ei de conservare și a obținut patente pentru aceasta.

Până în 1955 au fost descoperite majoritatea vitaminelor cunoscute astăzi: F (1929–1930); D₂ (1927–1932); K (1929–1934); acidul folic (1931); B₂ și biotina (1936); nicotinamida și acidul nicotinic (1937); B₆ (1938); tocoferolii (1943); B₁₂ (1948); acidul lipoic (1951); B₁₅ (1955) și altele (*Dumitru, 1970; Enescu și Ioniță, 1990*).

Odată cu creșterea numărului de vitamine izolate, purificate și caracterizate din punct de vedere structural și funcțional, conceptul de vitamină formulat de Funk și-a pierdut semnificația sa inițială, chiar dacă termenul „vitamină”, deși incorect, se utilizează în continuare.

În 1920, *Jack Cecil Drummond* a propus ca „e”-ul final din denumirea de *vitamine* să dispară, pentru a se dezaccentua legătura cu „aminele” după descoperirea faptului că vitamina C nu avea componentă aminică. În limba română forma a rămas însă neschimbată, spre deosebirea de limba engleză.

Actualmente se consideră că grupa vitaminelor include acele substanțe organice structural distincte care prezintă activitate biologică în doze foarte mici, nu posedă funcție energetică sau plastică și sunt absolut necesare asigurării funcțiilor vitale.

Cu mici excepții, vitaminele sunt sintetizate de către microorganisme și plante și pătrund în organismul animal și uman odată cu hrana.

Datorită faptului că vitaminele alcătuiesc o clasă de compuși biologic activi extrem de eterogenă din punct de vedere structural și funcțional, clasificarea lor este foarte dificilă. Singurul criteriu de clasificare unanim acceptat astăzi îl constituie solubilitatea vitaminelor, în funcție de această proprietate distingându-se două clase:

- vitamine liposolubile (A, D, E, F, K);
- vitamine hidrosolubile (vitaminele complexului B, vitaminele C, P, PP etc.).

După determinarea structurilor chimice și a funcțiilor lor fiziologice și biochimice, precum și după clasificarea căilor de degradare și biosinteză a vitaminelor, au fost introduse în terminologia biochimică și medicală și alte noțiuni. Astfel, precursorii vitaminelor, care sunt sintetizați în metabolismul

intermediar și care prin transformări ulterioare dau naștere vitaminelor se numesc **provitamine**.

Există substanțe organice, de regulă sintetice, care sunt înrudite structural cu anumite vitamine și manifestă aceeași activitate biologică cu acestea, pentru care se utilizează termenul de „analogi de vitamine” sau „substanțe cu acțiune vitaminică”

Mai există însă substanțe cu o structură apropiată de cea a vitaminelor, dar care manifestă activități biologice total opuse. Aceste substanțe au primit numele de **antivitamine**.

Stările patologice cauzate de lipsa totală din organism a unor vitamine se numesc **avitaminoze**, iar cele cauzate de insuficiența lor se numesc **hipovitaminoze**. În unele cazuri există stări patologice cauzate de excesul unor vitamine în organism, acestea primind numele de **hipervitaminoze**.

Pentru vitaminele cunoscute până în prezent se folosesc mai multe denumiri:

a) **denumirea alfabetică** ce utilizează majuscule ale alfabetului latin (A, B, C, D, E, F etc.). Odată cu creșterea numărului de vitamine cunoscute a început utilizarea unor indici (A_1 , A_2 , D_2 - D_7 ; B_1 - B_{15} , B_{12a} , B_{12b} , B_{12c} etc.);

b) **denumirea chimică** se bazează pe structura chimică a fiecărei vitamine (ergocalciferol, retinol, tocoferol, piridoxină);

c) **denumirea terapeutică** se bazează pe efectul farmacodinamic principal (vitamina antiscorbutică, vitamina antirahitică, vitamina antipela-groasă etc.).

Ultimele două sisteme de nomenclatură au fost introduse pentru a se evita unele confuzii, dat fiind faptul că, în unele cazuri (de exemplu, vitaminele B_1 - B_{15}), în cadrul aceleiași litere sunt cuprinse mai multe vitamine total diferite din punct de vedere structural și funcțional.

2. VITAMINELE LIPOSOLUBILE

2.1. Vitamina A

(retinol, vitamina antixeroftalmică, vitamina creșterii)

2.1.1. Generalități

Simptomele avitaminozei A sunt cunoscute din cele mai vechi timpuri. Astfel, hemeralopia a fost semnalată acum 3500 de ani. Tot în antichitate se cunoștea faptul că ingestia de ficat contribuie la îmbunătățirea vederii.

Corelația între capacitatea ochiului de a se adapta la întuneric și activitatea vitaminei A a fost, însă, demonstrată la începutul secolului XX. În experiențele pe șobolani, cărora li s-a administrat o dietă sintetică formată din proteine, glucide, slănină și săruri minerale, s-a observat o stopare a creșterii în greutate.

După un anumit interval de timp, această stagnare a creșterii a fost însoțită de inflamații ale sistemului respirator și vizual. Aceste simptome dispăreau dacă la dietă se adăugau unele produse naturale (unt, ulei, gălbenuș de ou etc.). În urma acestor experimente s-a concluzionat că produsele alimentare naturale conțin un factor de creștere, indispensabil vieții, numit de către *Mc Collum* în 1914 „factor liposolubil A”, pe care *Drummond*, doi ani mai târziu, îl numește „vitamina A”.

Corelația între carența clinică și cea experimentală de vitamină A a fost făcută în timpul primului război mondial când s-a observat că xeroftalmia la om se datora scăderii ponderii untului în alimentație.

Vitamina A a fost izolată de către *P. Karrer* în 1931, când i s-a determinat structura chimică, iar în 1937 s-a realizat prima sinteză chimică a acestei vitamine. Produsele alimentare de origine animală (untul, ficatul, gălbenușul de ou, laptele, uleiul de pește etc.) sunt mult mai bogate în vitamina A comparativ cu produsele vegetale. În 1938, *P. Karrer* și *H. Euler*

observă că pigmentii vegetali din clasa carotenilor au același efect fiziologic ca și vitamina A, iar *Th. Moore* demonstrează că preparatele de caroteni administrate animalelor avitaminizate sunt convertite de organismul animal în vitamina A. S-a concluzionat că aceste substanțe joacă rol de precursori ai vitaminei A *in vivo* (*Kolotilova et al., 1976*).

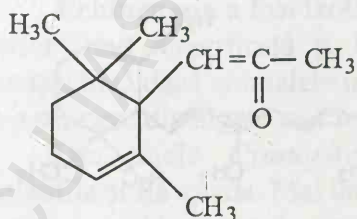
2.1.2. Structura chimică a provitaminelor și a vitaminelor A

În prezent se cunosc în jur de 560 de carotenoizi dintre care doar câțiva pot fi convertiți în retinol (*Tamaș și Neamțu, 1986*). Cei mai mulți retinoizi nu pot genera retinolul. Cu toate acestea, ei prezintă unele proprietăți antioxidante extrem de importante pentru organism deoarece carotenoizii în general și β -carotenul în special au capacitatea de a neutraliza oxigenul singlet diminuând în felul acesta, în mod considerabil, riscul apariției cancerului prin protecția țesuturilor epiteliale față de radicalii liberi.

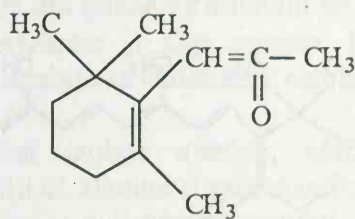
Dintre precursorii naturali ai vitaminelor A, cele mai importante provitamine A sunt α -, β - și γ -carotenii, criptoxantina, afanina, leprona, echinenona etc.

Carotenoizii sunt compuși naturali des întâlniți în organismele vegetale și mai puțin în cele animale. Sunt substanțe cu structură polienică, iar numărul mare de legături duble conjugate le conferă culori diferite care variază de la galben la portocaliu și, respectiv, de la roșu la violet. Aceleași legături duble din catena polienică, conferă carotenoizilor izomerie *cis-trans*, majoritatea acestora prezentând configurație *all-trans* (*Dan și colab., 1992*).

La cele două extremități ale catenei polienice se află câte un nucleu iononic. Condiția obligatorie pentru ca un carotenoid să poată îndeplini rol de provitamină A este ca la cel puțin una din extremități să prezinte un nucleu β -iononic. La cealaltă extremitate se poate afla un nucleu α -iononic, β -iononic sau pseudoiononic:

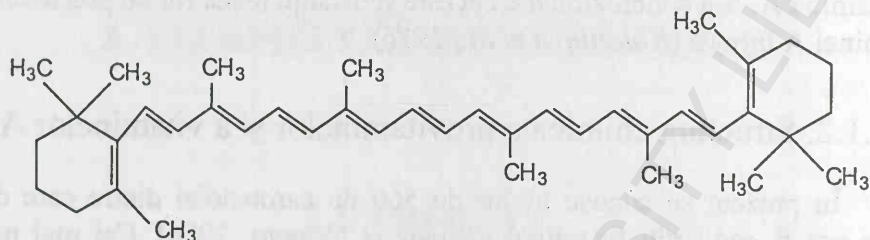


α -iononă



β -iononă

β -Carotenul este cel mai important precursor al vitaminei A. El se găsește în cloroplaste împreună cu clorofila, fie sub forma unor complecși proteici hidrosolubili, fie sub formă de picături lipidice.



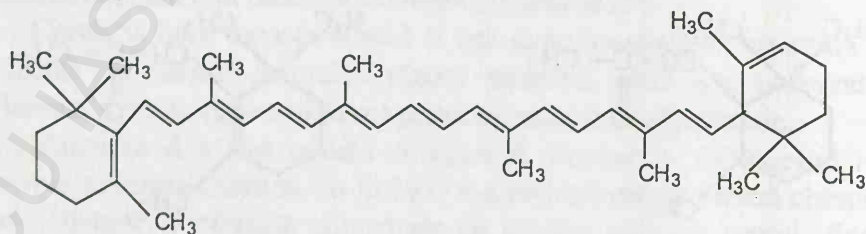
β -caroten

Prezența acestuia în frunze este mascată de către clorofilă și doar toamna, după degradarea acesteia, frunzele își modifică culoarea în funcție de conținutul în caroteni. O cantitate apreciabilă de β -caroten se găsește în morcovi unde reprezintă aproximativ 30 % din totalul carotenoizilor, față de 1% pentru α -caroten și, respectiv, 0,1% în cazul γ -carotenului.

β -Carotenul pur este o substanță cristalină, galben-portocalie, insolubilă în apă, solubilă în solvenți organici, optic inactivă. Dintr-un amestec de metanol și benzen, β -carotenul cristalizează sub formă de tablete violet închis, cu punct de topire la 184°C .

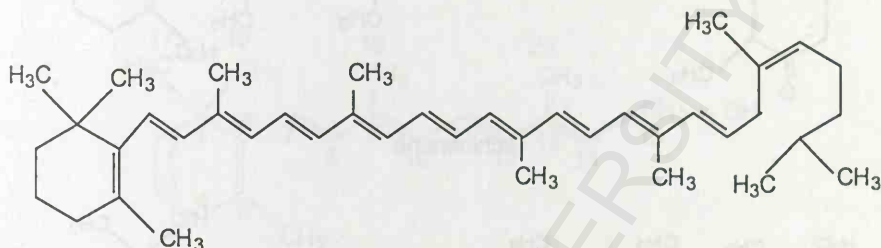
α -Carotenul se deosebește de β -caroten prin faptul că la una dintre extremități prezintă un ciclu α -iononic și este un compus optic activ. Se găsește în plante, de regulă alături de β -caroten, deși în unele plante lipsește cu desăvârșire (spanac, urzică, orz etc.).

Din amestecul metanol-benzen, α -carotenul cristalizează sub formă de prisme de culoare cărămizie, care prin uscare trec în roșu-violet. α -Carotenul are punctul de topire la $188,5^{\circ}\text{C}$ și se distruge foarte greu prin încălzire, în absența oxigenului. În schimb, acizii sau oxigenul îl degradează extrem de ușor.

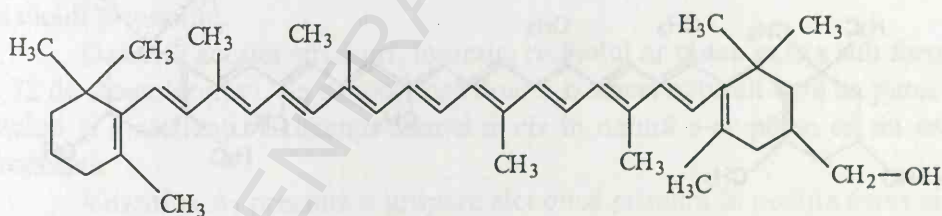


α -caroten

γ -Carotenul însoțește, de asemenea, β -carotenul în plante unde se găsește, însă, în cantități mult mai mici. În unele cazuri (*Cuscuta salina*) cantitatea de γ -caroten poate fi mult mai mare decât cea a β -carotenului. Cristalizează sub formă de ace grupate în snopi și are punctul de topire la 178°C. Poate fi separat de carotenoizi prin cristalizare cu un amestec de alcool și sulfură de carbon.

 γ -caroten

Criptoxantina este foarte răspândită în plante unde, împreună cu β -carotenul, reprezintă în medie peste 30 % din cantitatea totală a pigmentilor vegetali. Cantități însemnate de criptoxantină se găsesc în porumbul cu endospermul galben.

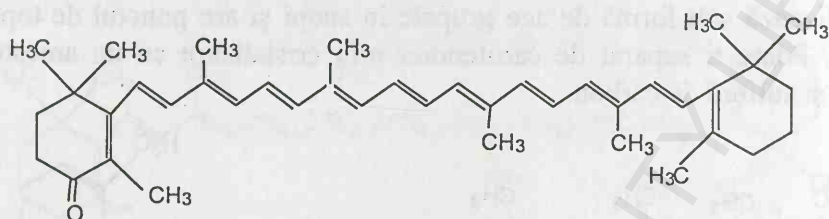


criptoxantină

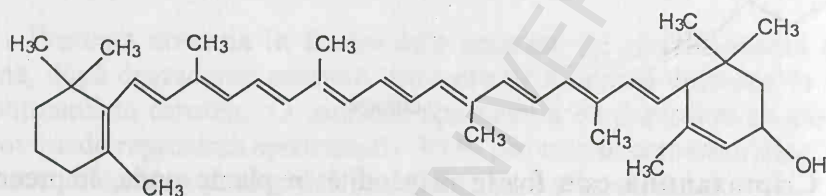
Echinenona a fost izolată prima dată din gonadele ariciului de mare, ulterior fiind identificată și la alte nevertebrate și alge marine. Nu se cunoaște încă dacă animalele marine sunt capabile să sintetizeze echinenona sau o primesc din algele cu care se hrănesc.

Din unele *Cyanophyceae* au fost izolate afanina, afanicina, afanizofila și flavocina. Mai târziu s-a stabilit că afanina și mixoxantina sunt identice cu echinenona. În frunzele plantelor se mai găsesc cantități relativ mari de xantofilă și în cantități mult mai mici zeaxantină. Din tomate s-a izolat lycopina, un carotenoid aciclic care conține 13 legături duble, din care

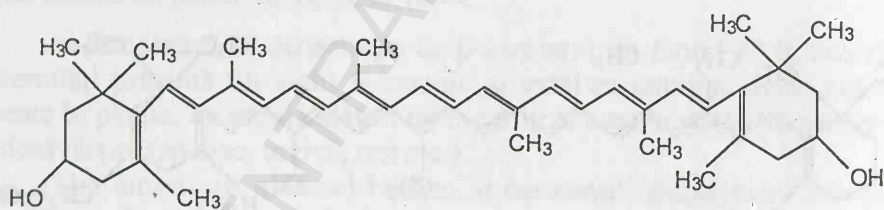
11 sunt conjugate. Ulterior lycopina a fost identificată și în fructele de măceș, în pepeni, caise, ardei, piersici etc.



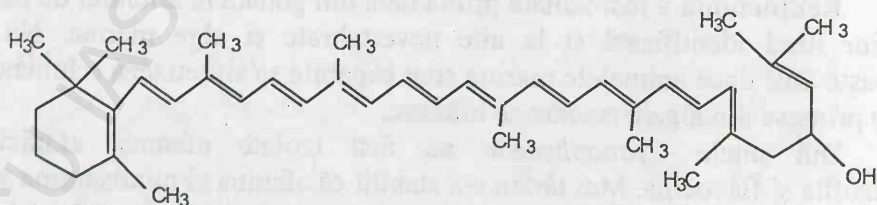
echinenonă



xantofilă (luteină)

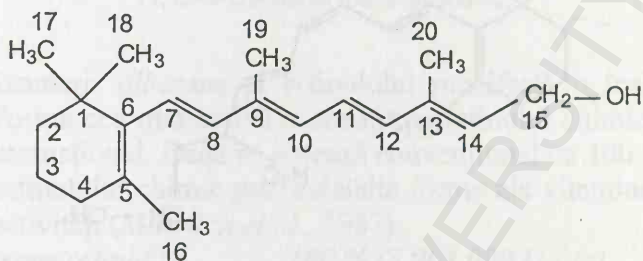


zeaxantină



licopină

Vitaminele A pot exista sub mai multe forme structurale. Forma alcoolică (vitamina A₁) se numește **retinol** [*all-trans*-3,7-dimetil-9-(2,6,6-trimetil-1-ciclohexen-1-il)-2,4,6,8-nonatetraen-1-ol]. În funcție de unele acțiuni fiziologice, vitamina A₁ se mai numește vitamina antixeroftalmică (axeroftal), vitamina de apărare a epiteliiilor, vitamina de creștere liposolubilă etc.

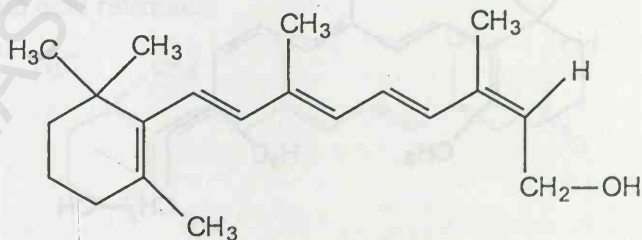


vitamina A₁ (retinol)

Retinolul este o substanță solubilă în grăsimi, cu proprietăți antioxidante, cu formula chimică generală C₂₀H₃₀O și o greutate moleculară de 286,4. Din punct de vedere structural, retinolul conține 5 legături duble conjugate, din care 4 în catena laterală polienică și 5 grupe metil din care 3 la ciclul β-iononic.

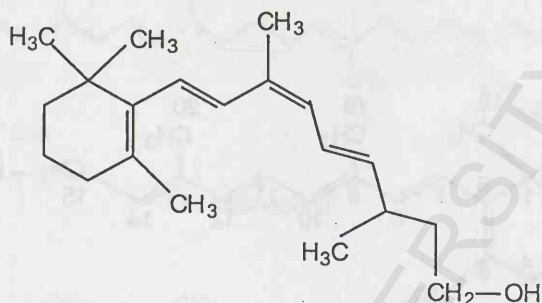
Datorită acestei structuri, teoretic, retinolul ar putea exista sub forma a 32 de stereoizomeri. Se cunosc însă doar 6 izomeri naturali care au putut fi izolați și sintetizați. Existența formelor *cis* în natură s-ar părea că nu este frecventă.

Vitamina A₁ prezintă o grupare alcoolică primară în poziția *trans* și o configurație *all-trans* (*trans-trans*) a catenei polienice, spre deosebire de neovitamina A_a la care gruparea alcoolică este în poziția *cis*:

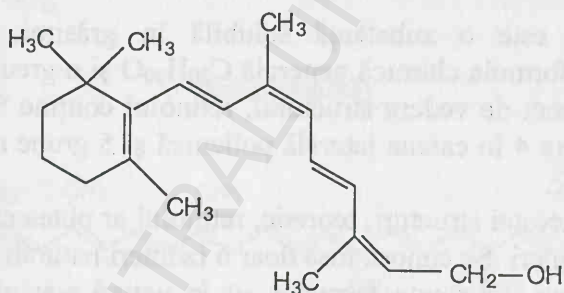


neovitamina A_a (13-*cis*-retinol)

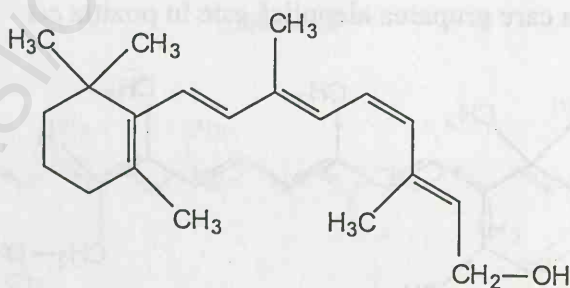
Se mai cunosc alte 4 forme ale vitaminei A₁ și anume izovitamina A_a care prezintă izomerie *cis* în poziția 9, izovitamina A_b cu configurație *cis* în pozițiile 9 și 13, neovitamina A_b (11-*cis*) și respectiv neovitamina A_c (11,13-di-*cis*):



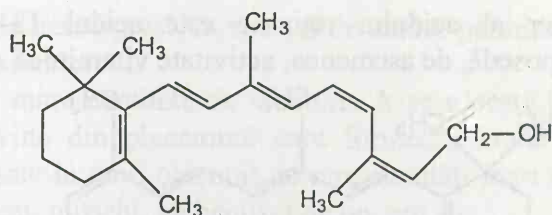
9-*cis*-retinol (izovitamina A_a)



9,13-di-*cis*-retinol (izovitamina A_b)



11-*cis*-retinol (neovitamina A_b)

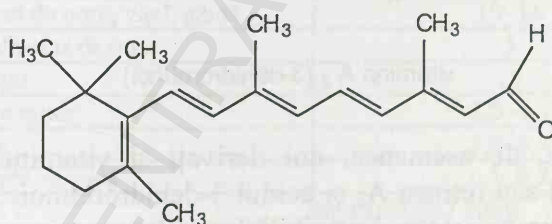


11,13-di-cis-retinol (neovitamina A_c)

Toți izomerii *all-trans* ai retinolului manifestă o înaltă activitate biochimică. Forma cea mai activă o constituie retinolul chimic pur, utilizat ca standard internațional. Dacă se notează convențional cu 100 % activitatea biologică a retinolului chimic pur, celelalte forme ale vitaminei A prezintă următoarele activități (Munnich *et al.*, 1987):

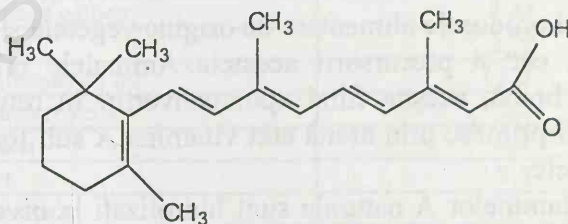
– <i>all-trans</i> retinol	100 % (3 904 000 U.I./g)
– 13-cis retinol	75 % (2 190 000 U.I./g)
– 9-cis retinol	21 % (607 000 U.I./g)
– 9,13-di-cis retinol	24 % (688 000 U.I./g)
– 11-cis retinol	24 % (690 000 U.I./g)
– 11,13-di-cis retinol	15 % (428 000 U.I./g).

În procesul vederii, un rol important îl joacă aldehida retinolului-retinalul:



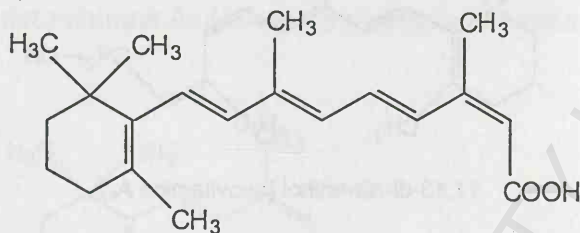
retinal

Este posibil ca forma activă, specifică vitaminei A, să fie forma acidă, denumită acid retinoic:



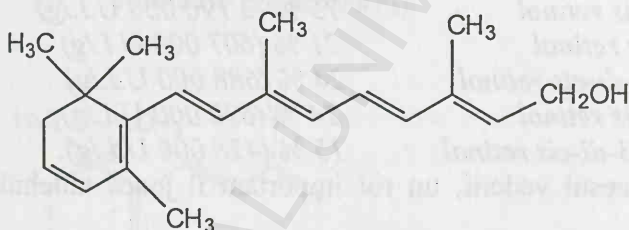
acid retinoic

Un izomer al acidului retinoic este acidul 13-*cis*-retinoic sau izotretioina care posedă, de asemenea, activitate vitaminică A:



izotretioina (acid 13-*cis*-retinoic)

Din uleiul de pește a fost izolat 3-dehidroretinolul sau vitamina A₂. Ulterior aceasta a fost obținută și pe cale sintetică:



vitamina A₂ (3-dehidroretinol)

Se cunosc, de asemenea, doi derivați ai vitaminei A₂ și anume 3-dehidroretinalul sau retinen A₂ și acidul 3-dehidroretinoic. Spre deosebire de retinol, vitamina A₂ este mai sensibilă la oxidare.

2.1.3. Stare naturală

Furajele și produsele alimentare de origine vegetală și animală conțin atât vitamina A cât și precursorii acesteia. Animalele erbivore primesc carotenoizii din hrană, aceștia fiind apoi converțiți în retinol. Animalele carnivore și omul primesc prin hrană atât vitamina A sub formă esterificată cât și provitaminele.

Esterii vitaminelor A naturale sunt hidrolizați la nivelul intestinului subțire sub acțiunea *retinol-ester-hidrolazelor* pancreatice. Sub formă liberă, retinolul este absorbit la nivel intestinal după care, în microsomi, este din

nou esterificat de acizii grași, în special de acidul palmitic, acumulându-se sub formă de chilomicroni.

Cea mai mare cantitate de vitamina A se găsește în untura peștilor marini. Ea provine din planctonul care formează hrana acestora. Dintre alimentele utilizate în mod obișnuit de om, cantități mari de vitamina A se mai găsesc în ficat, mușchi, gălbenușul de ou, unt etc.

Uleiurile vegetale, untura, margarina, seul, carnea grasă și multe alte alimente ce fac parte din dieta obișnuită a omului nu conțin vitamina A. Conform ultimelor cercetări efectuate la *Linus Pauling Institute* din Statele Unite ale Americii în 2003, principalele surse de vitamină și provitamine A pentru om sunt cele redate în tabelul I (Freeman, 2004).

Tabelul 2.1

Conținutul în vitamină A și caroteni al principalelor produse alimentare*

Nr. crt.	Sursa alimentară	mg vitamină A / 100 g
1	Untură de pește	280
2	Ulei de <i>Pleuronectes</i>	200
3	Ulei de ficat de morun	180
4	Ulei de ficat de ton	150
5	Ficat de curcan	33
6	Ficat de porc, vițel, găină	10–15
7	Gălbenuș de ou	5
8	Pește	10
9	Icre crude	3,5–4,0
10	Unt	3,0–3,5
11	Lapte de vacă	0,1–0,2
mg caroteni / 100g		
12	Măcriș	10–11
13	Morcov	10–12
14	Spanac	7–10
15	Pătrunjel verde	5,0
16	Pepene galben	3,42
17	Caise	2,79
18	Gălbenuș de ou	2,0
19	Varză roșie	1,5
20	Mălai	0,4
21	Unt	0,5
22	Portocale	0,06
23	Cartofi	0,02

*Linus Pauling Institute, 2003 (Freeman, 2004).

2.1.4. Proprietățile provitaminelor și vitaminelor A

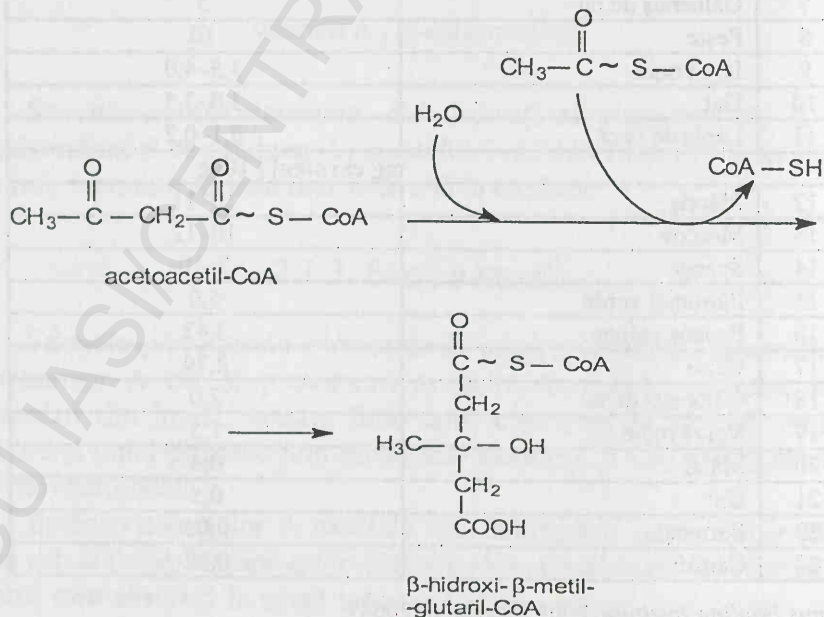
Carotenii sunt substanțe solubile în grăsimi și solvenți organici și insolubile în apă. Datorită gradului înalt de nesaturare carotenoizii se oxidează foarte ușor în prezența luminii și în contact cu aerul. Stereoizomerii carotenoizilor se pot diferenția prin spectrul de absorbție și pot fi separați prin cromatografie pe coloană deoarece prezintă viteze diferite de migrare.

Retinolul este relativ termostabil în prezența oxigenului, este insolubil în apă și ușor solubil în cloroform, benzen, acetonă, metanol, eter etilic și lipide. Din soluția metanolică, retinolul cristalizează la temperaturi foarte joase cu formare de cristale de culoare galbenă. Retinolul și dehidroretinolul devin mult mai stabile sub forma soluțiilor lipidice.

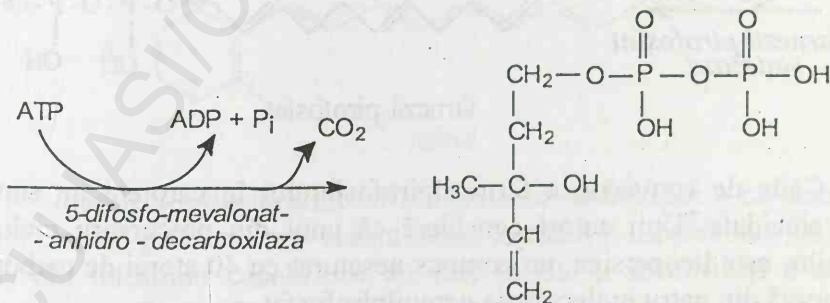
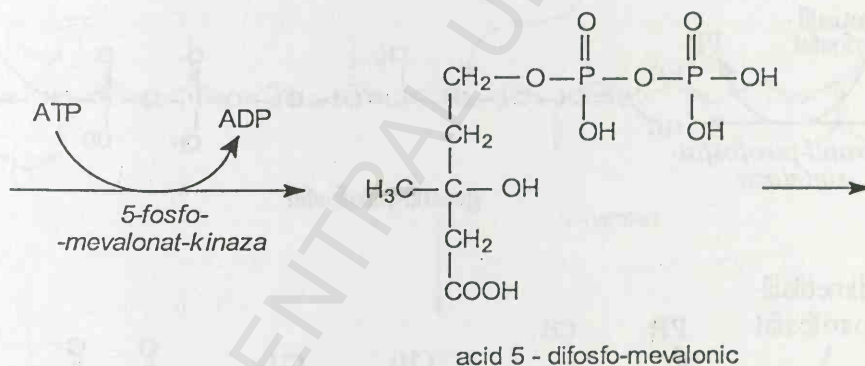
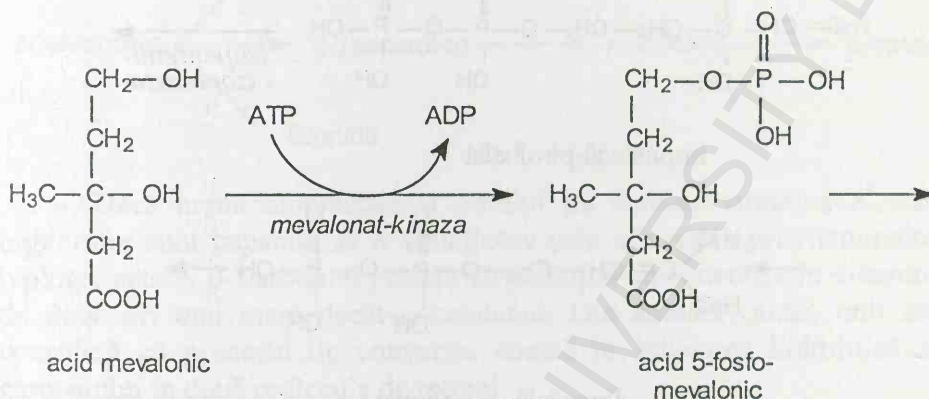
2.1.5. Metabolismul vitaminelor A

În toate țesuturile vegetale există o serie de carotenoizi care diferă între ei prin raportul masic C/H. Aceștia au drept precursor comun fitenul ($C_{40}H_{64}$) care, la rândul său, provine din acetyl-CoA, produs intermediar al catabolismului glucidic, lipidic și chiar proteic.

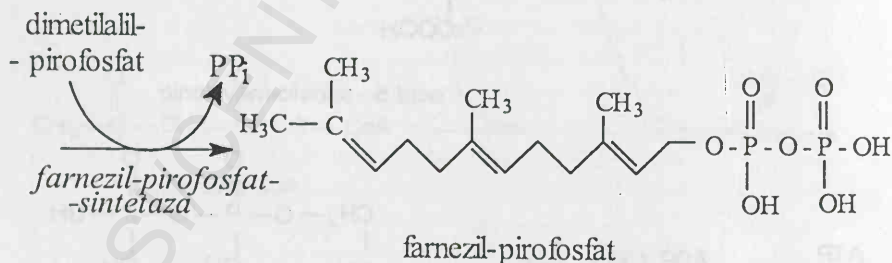
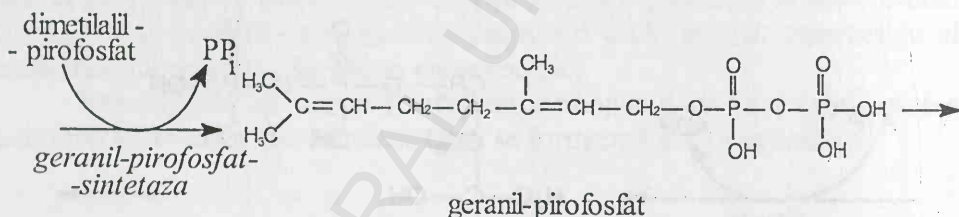
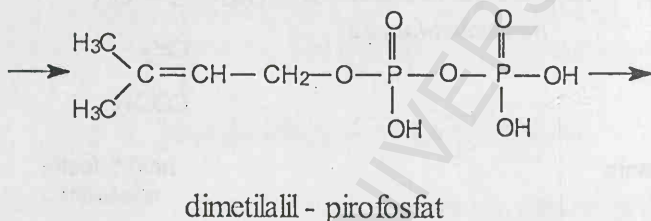
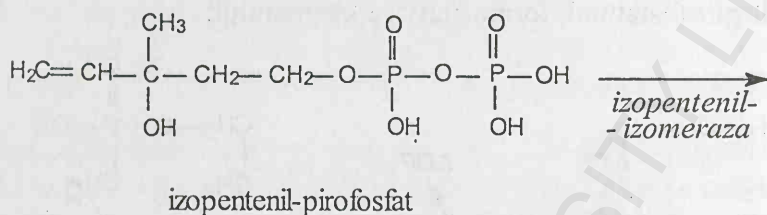
Experiențele cu acetat marcat au demonstrat că prin condensarea succesivă a trei molecule de acetyl-CoA se formează acidul mevalonic:



În urma hidrolizei legăturii macroergice se formează acidul β -hidroxi- β -metil-glutaric care, în urma unor procese de oxido-reducere, trece în acid mevalonic. Sub acțiunea unei *kinaze* specifice, mevalonatul este fosforilat succesiv la gruparea alcoolică primară cu formarea, în final, a izopentenil-pirofosfatului, forma activă a izoprenului:



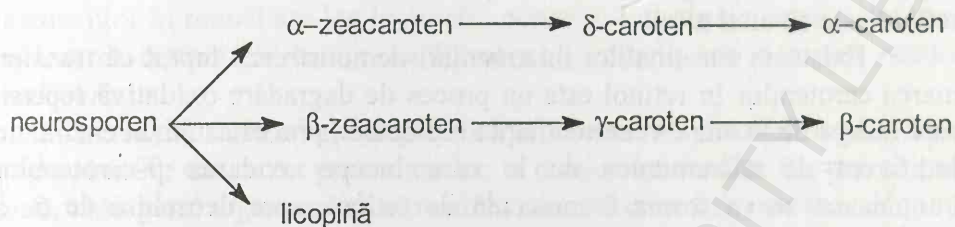
Sub acțiunea *izopentenil-izomerazei*, izopentenil-pirofosfatul trece în dimetilalilpirofosfat care, prin condensare, formează mai întâi geranil-pirofosfatul, apoi farnezilpirofosfatul:



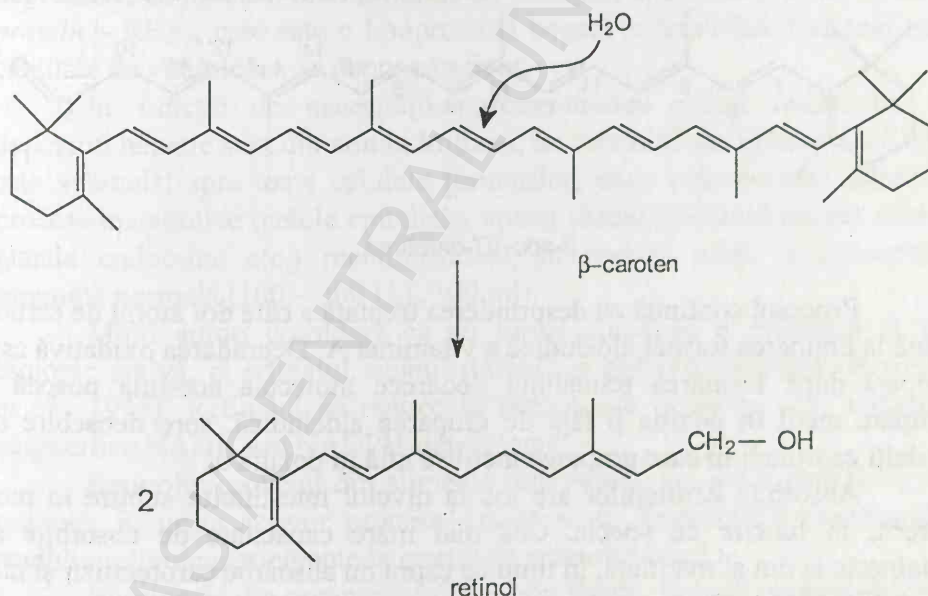
Căile de conversie a farnezilpirofosfatului în caroteni nu sunt pe deplin elucidate. Unii autori consideră că unul din precursorii ciclici ai carotenilor este licopersina, un compus nesaturat cu 40 atomi de carbon, ce se formează din patru molecule de geranilpirofosfat.

Alți autori, în experiențe cu cloroplaste izolate, demonstrează că ciclizarea are loc la nivelul lycopinei.

Experiențele pe *Chlorella vulgaris* arată că lycopina se formează din neurosporen, alături de caroteni:



Dacă hrana animalelor și omului nu conține vitamină A, aceste organisme sunt capabile să o sintetizeze prin conversia provitaminelor A biologic active. β-Carotenul posedă un potențial de conversie în vitamină A de două ori mai mare decât α-carotenul. Din această cauză, unii autori consideră că procesul de conversie constă în scindarea hidrolitică a β-carotenului în două molecule de retinol:

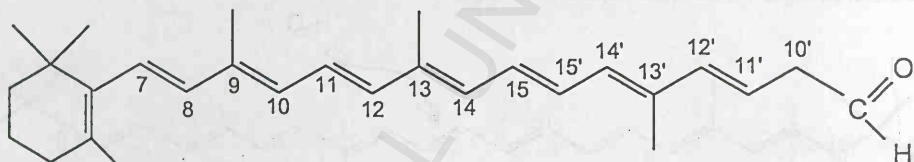


Ulterior s-a demonstrat că randamentul conversiei γ-carotenului în retinol este de patru ori mai scăzut decât în cazul β-carotenului. Pe de altă parte, din intestinul cabalinelor au fost izolați și identificați o serie de compuși cu structură aldehydică (β-apo-8'-; β-apo-10'- și β-apo-12'-carotinali). Introducerea acestora în organismul animalelor avitaminizate era însoțită de conversia în vitamină A și însănătoșirea animalelor. În același

timp, cantități egale de β -caroten și vitamină A prezintă activități biologice diferite, în sensul că retinolul este de două ori mai activ. Aceste date experimentale au sugerat ideea că procesul de conversie a carotenilor în retinol este cu totul altul.

Existența carotinalilor intermediari demonstrează faptul că transformarea carotenilor în retinol este un proces de degradare oxidativă repetată care începe de la una din extremitățile moleculei, proces catalizat enzimatic. Indiferent de extremitatea de la care începe oxidarea β -carotenului, întotdeauna se va forma o moleculă de retinol, spre deosebire de α - și γ -caroteni (cu un singur ciclu β -iononic) la care degradarea oxidativă poate avea drept rezultat fie formarea unei molecule de retinol, fie a unui compus inactiv, în funcție de capătul moleculei unde are loc primul atac al enzimei.

Se presupune că locul inițial al acțiunii enzimei îl constituie legătura dublă din catena polienică, aflată în vecinătatea ciclului iononic, cu formarea β -apo-10'-carotinalului ca produs intermediar:



β -apo-10'-carotinal

Procesul continuă cu desprinderea treptată a câte doi atomi de carbon până la obținerea formei aldehidice a vitaminei A. Degradarea oxidativă este stopată după formarea retinalului deoarece molecula acestuia posedă o grupare metil în poziția β față de gruparea aldehidică, spre deosebire de ceilalți carotinali în care gruparea metil se află în poziția α .

Absorbția carotenilor are loc la nivelul intestinului subțire în mod diferit, în funcție de specie. Cea mai mare capacitate de absorbție se întâlnește la om și maimuță, în timp ce capra nu absoarbe carotenoizii și nici xantofilele.

Mecanismul absorbției carotenilor este similar cu cel al lipidelor, necesitând prezența lipazei pancreatice și a bilei pentru emulsionare.

Mult timp s-a considerat că procesul conversiei carotenilor în vitamină A are loc în ficat. Experiențele *in vivo* efectuate prin injectarea suspensiilor coloidale de caroten, intravenos, subcutanat și intramuscular nu au confirmat această ipoteză.

Prin administrarea carotenului direct în intestinul subțire al oilor și caprelor s-a constatat că acesta nu este prezent în sângele venei porte, unde a fost detectat, în schimb, retinolul. Aceasta înseamnă că transformarea carotenilor în retinal are loc la nivelul peretelui intestinal. Tot aici are loc și reducerea formei aldehidice cu formare de retinol, sub acțiunea *retinen-reductazei*.

Prin utilizarea tehnicii legăturilor venei porte s-a demonstrat că la suine, ovine, bovine etc., acest proces are loc la nivelul duodenului. La om, se pare, însă, că singurul organ capabil să realizeze această conversie este ficatul.

Vitaminele A naturale din alimente pătrund în organism sub formă esterificată sau liberă (retinol și/sau retinal). Esterii retinolului sunt hidrolizați în intestinul subțire sub acțiunea *retinol-ester-hidrolazei* pancreatice, enzimă activată de sărurile biliare. După absorbție, retinolul trece din nou în formă esterificată, de regulă cu acidul palmitic.

Sub această formă este transportat pe cale limfatică spre organele de depozitare, cu ajutorul unei proteine de transport specifice (*retinol-binding-protein* – RBP), care este o lipoproteină bogată în triptofan. Cea mai mare cantitate de vitamină A se depune în ficat.

În funcție de necesitățile organismului, esterii retinolului din depozitul hepatic sunt din nou hidrolizați, iar retinolul se cuplează cu RBP și este vehiculat spre toate celulele țesuturilor, unde este necesar diferitelor procese metabolice (celule epiteliale, aparat vizual, sistemul nervos central, glande endocrine etc.) menținându-se, în același timp, o concentrație sanguină normală (100 – 200 U.I./100 ml).

Mulți autori consideră că nu forma alcoolică a vitaminei A este biologic activă, ci retinalul, acidul retinoic și derivații acestuia (*Bernstein et al.*, 1995). Retinalul se reduce la retinol sub acțiunea unei *reductaze* nespecifice NADH sau NADPH-dependente.

Retinolul provenit din alimente este oxidat, cel puțin parțial, la acid retinoic. În urma acestor procese oxidative se formează β -glucuronidele acidului retinoic participante la circulația enterohepatică.

Eliminarea din organism se face prin fecale. În mod normal, urina nu conține vitamină A. Aceasta poate să apară în urină în unele cazuri patologice cum ar fi nefrita cronică. Recent, au fost clarificate principalele transformări metabolice ale vitaminei A în organismul uman și animal, începând cu conversia β -carotenului în retinol, transformările acestuia la nivelul ochiului și eliminarea din organism sub formă de esteri cu diferiți acizi (fig. 2.1).

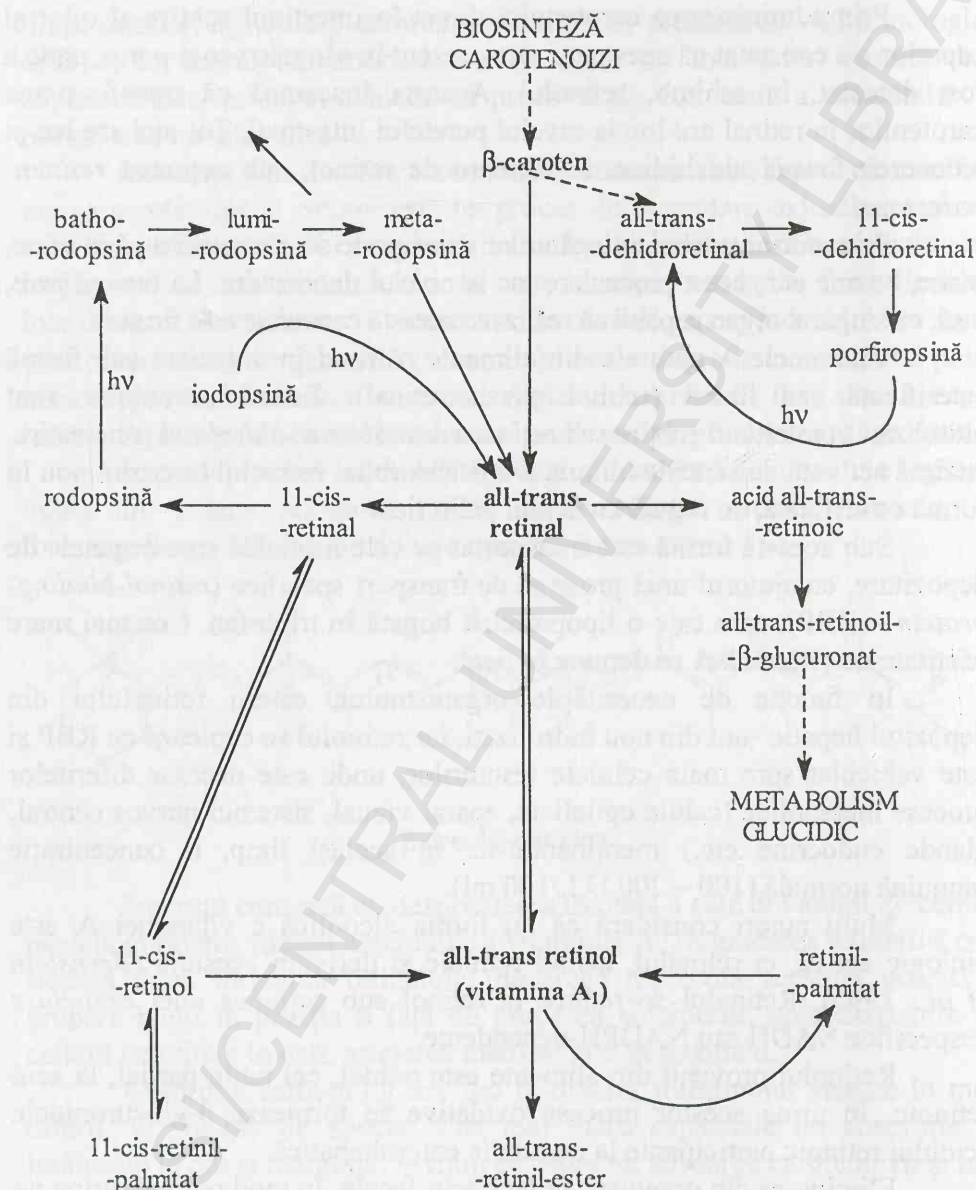
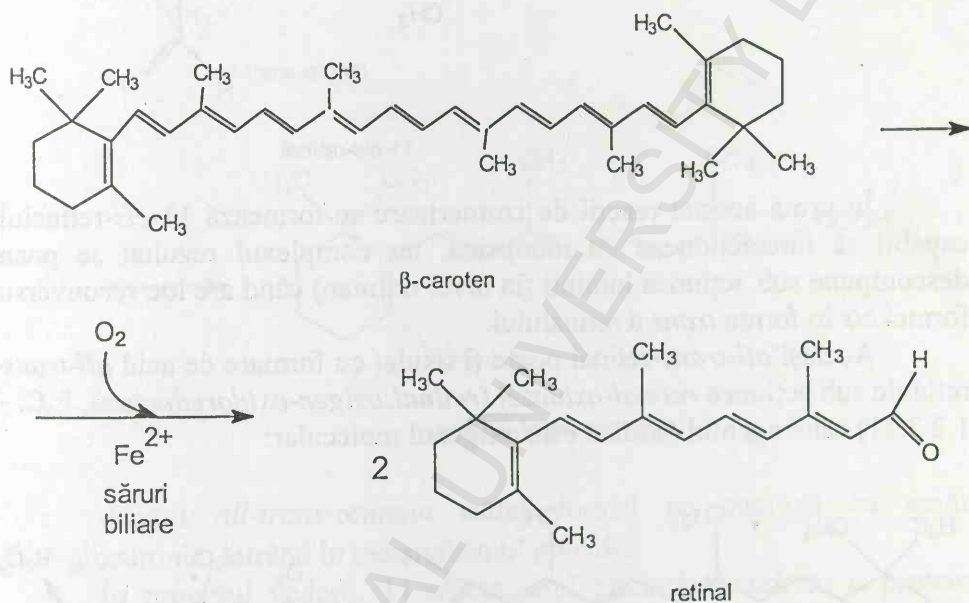


Figura 2.1. Reprezentarea schematică a transformărilor metabolice ale retinolului (Artenie, 1991).

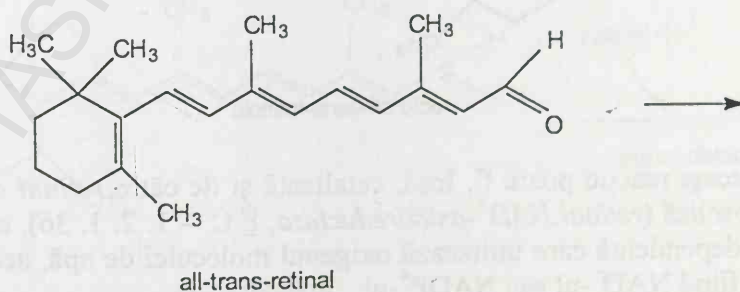
Cu excepția a trei reacții care au loc sub acțiunea luminii, toate celelalte transformări se realizează sub acțiunea catalitică a unor enzime specifice.

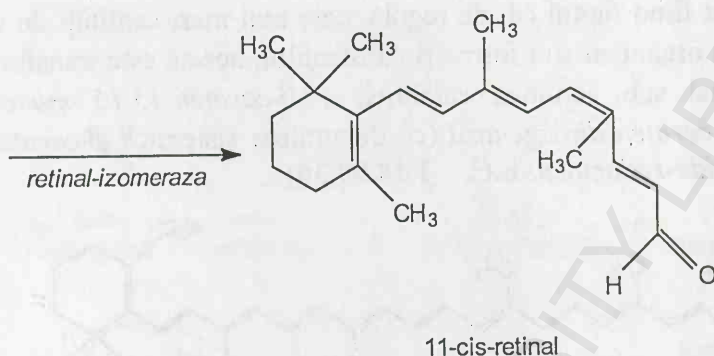
Dat fiind faptul că, de regulă, cele mai mari cantități de vitamină A pătrund în organism sub forma β -carotenului, acesta este transformat în *all-trans*-retinal sub acțiunea catalitică a β -caroten-15,15'-monooxigenazei numită și *caroten-dioxigenază* (cu denumirea sistemică β -caroten : oxigen 15,15'-oxido-reductaza, E.C. – 1.14.99.36):



De fapt, enzima nu utilizează oxigenul molecular pentru formarea grupării aldehidice. Reacția are loc în trei etape: epoxidarea legăturii duble $C_{15} = C_{15'}$, hidratarea și, respectiv, clivarea oxidativă a diolului format (Leuenberger et al., 2001, citat de Brown et al, 2002).

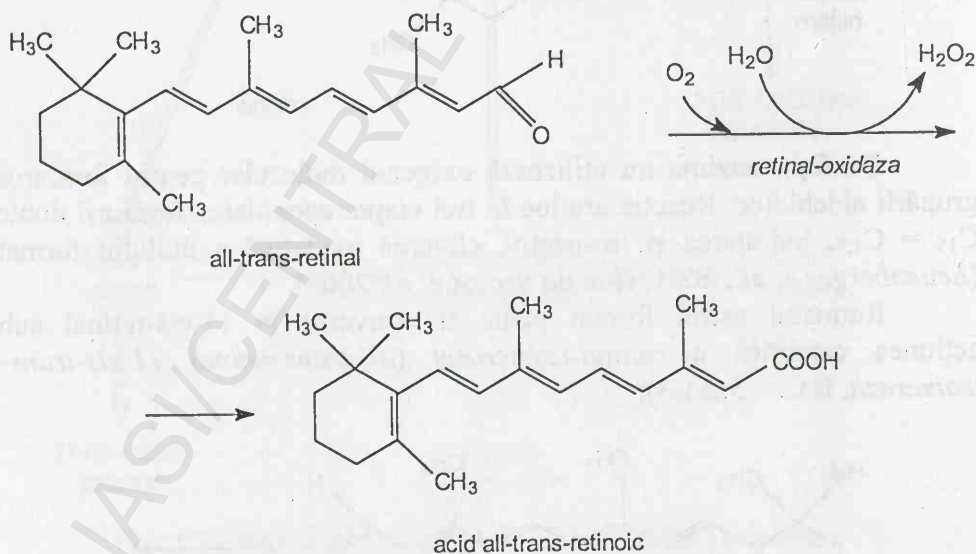
Retinalul astfel format poate fi convertit în 11-cis-retinal sub acțiunea catalitică a *retinal-izomerazei* (*all-trans-retinal 11-cis-trans-izomeraza*, E.C. – 5.2.1.3):



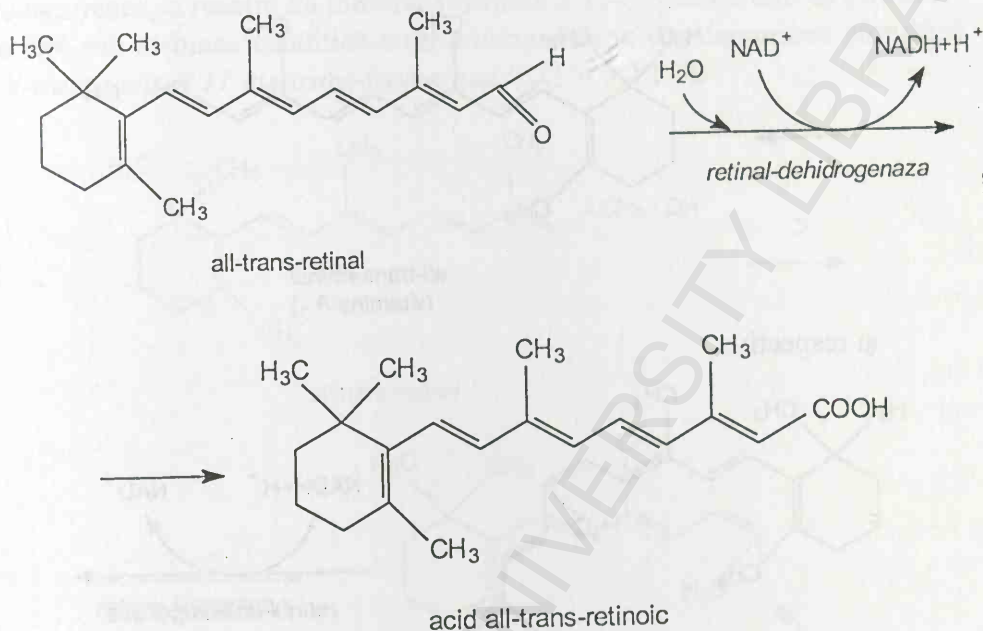


În urma acestei reacții de izomerizare se formează 11-cis-retinalul, capabil să interacționeze cu iodopsina, iar complexul rezultat se poate descompune sub acțiunea luminii (la nivel retinian) când are loc reconversia formei *cis* în forma *trans* a retinalului.

Același *all-trans*-retinal poate fi oxidat cu formare de acid *all-trans*-retinoic sub acțiunea *retinal-oxidazei* (*retinal:oxigen-oxidoreductaza*, E.C. – 1.2.3.11) când agentul oxidant este oxigenul molecular:

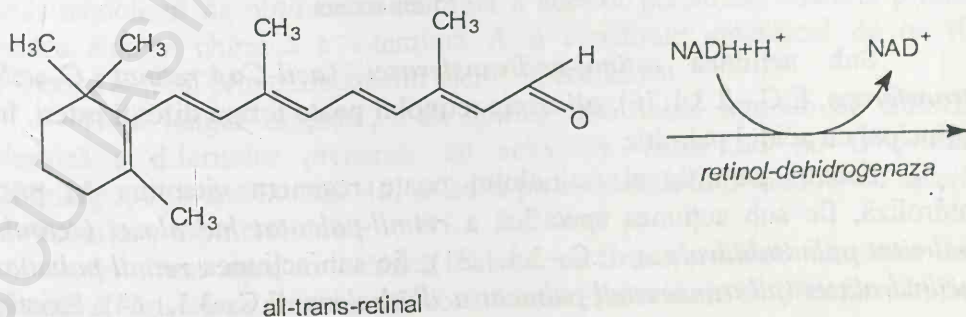


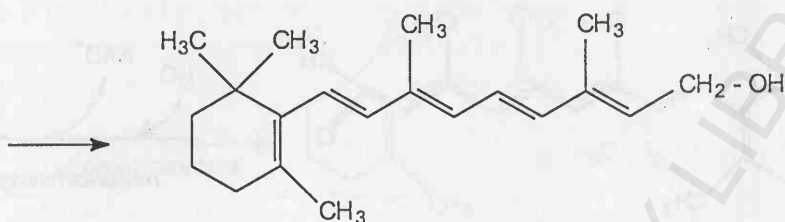
Acceași reacție poate fi, însă, catalizată și de către *retinal dehidrogenaza* citosolică (*retinal:NAD⁺-oxidoreductaza*, E.C. – 1. 2. 1. 36), o enzimă NAD(P)⁺-dependentă care utilizează oxigenul moleculei de apă, acceptorul de protoni fiind NAD⁺-ul sau NADP⁺-ul:



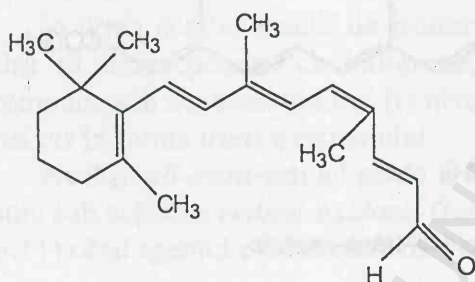
Acidul *all-trans*-retinoic astfel format se conjugă cu acidul β -D-glucuronic, intrând în metabolismul glucidic.

În procesul vederii, 11-*cis*-retinalul interacționează cu o proteină specifică – opsină – cu formare de rodopsină, iar aceasta suferă o serie de transformări succesive pe parcursul procesului vizual (*rodopsină* $\rightarrow$ *bathorodopsină* $\rightarrow$ *lumirodopsină* $\rightarrow$ *metarodopsină*), regenerând *all-trans*-retinalul. Atât 11-*cis*-retinalul cât și *all-trans*-retinalul pot suferi reacții reversibile de reducere sub acțiunea *retinol-dehidrogenazei* (*retinol:NAD⁺-oxidoreductaza*, E.C. – 1.1.1.105), o enzimă cu specificitate joasă, cu formare de 11-*cis*-retinol și respectiv *all-trans*-retinol:

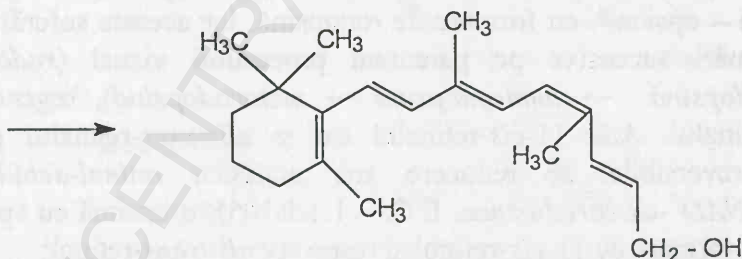
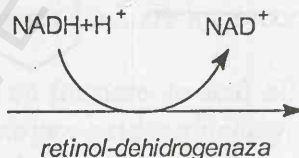


all-trans-retinol
(vitamina A₁)

și respectiv:



11-cis-retinal

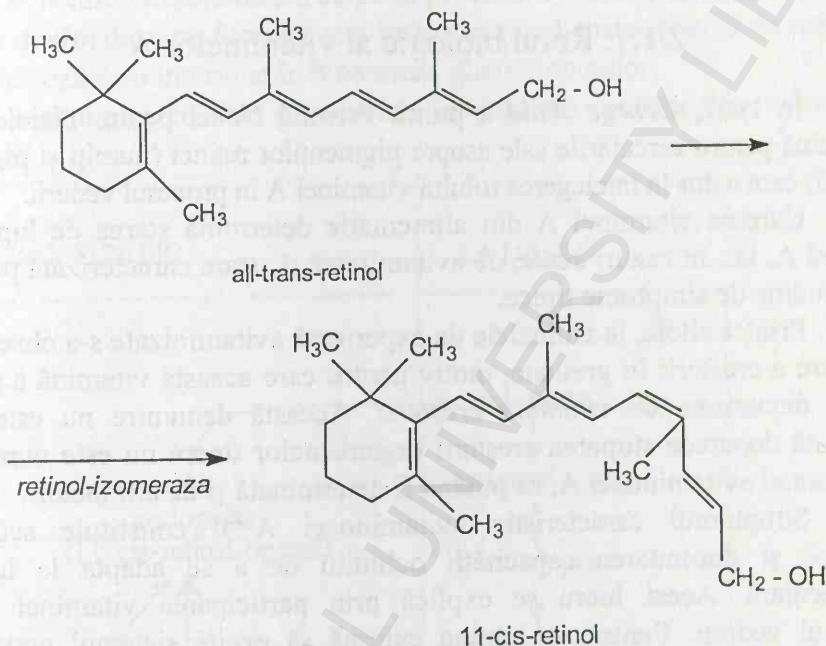


11-cis-retinol

Sub acțiunea *retinol-aciltransferazei* (*acil-CoA:retinol O-acil-transferaza*, E.C.- 2.3.1.76), *all-trans-retinolul* poate forma diferiți esteri, în principal cu acidul palmitic.

Esterul palmitic al retinolului poate regenera vitamina A₁ prin hidroliză, fie sub acțiunea specifică a *retinil-palmitat hidrolazei* (*retinil-palmitat palmitohidrolaza*, E.C.-3.1.1.21), fie sub acțiunea *retinil-palmitat acilhidrolazei* (*all-trans-retinil-palmitat acilhidrolaza*, E.C.-3.1.1.64). Există,

de asemenea, o reacție de intertransformare a 11-*cis*-retinolului în *all-trans*-retinol sub acțiunea catalitică a *retinol-izomerazei* (cu denumirea științifică *all-trans-retinol 11-cis-trans-izomeraza*, E.C. – 5.2.1.7):



2.1.6. Sinteza chimică a vitaminei A

Prima sinteză chimică completă a retinolului a fost realizată de *David Adriaan van Dorp* și *Josef Ferdinand Arens* în 1947 (*Greeves and Wothers*, 2001). Preparatele farmaceutice de vitamina A se obțin, de obicei, din ficatul peștilor marini și al mamiferelor. Creșterea necesarului de vitamine A, mai ales datorită utilizării în zootehnie, a condus la elaborarea unor tehnologii de obținere industrială a acestor preparate. Materia primă pentru sinteza chimică a vitaminei A o constituie amestecul de α - și β -iononă obținut prin extracție din uleiul de coriandru.

De-a lungul timpului, s-au aplicat mai multe metode de sinteză chimică a diferitelor preparate cu activitate vitaminică A. O primă tehnologie, utilizată în anii '40, se baza pe condensarea β -iononei cu săruri ale acidului γ -bromcrotonic.

A urmat apoi o tehnică bazată pe transformarea citratului în β -iononă, iar sinteza propriu-zisă constă într-o succesiune de transformări de

tip Grignard. Astăzi, se folosesc mai multe modificări ale tehnologiilor de bază, iar protejarea vitaminei A față de acțiunea oxidantă a aerului se face realizând transformările sub azot.

2.1.7. Rolul biologic al vitaminelor A

În 1967, *George Wald* a primit Premiul Nobel pentru Fiziologie și Medicină pentru cercetările sale asupra pigmentilor retinei (numiți și pigmenti vizuali) care a dus la înțelegerea rolului vitaminei A în procesul vederii.

Carența vitaminei A din alimentație determină starea de hipovitaminoză A, iar, în cazuri acute, de avitaminoză A, stare caracterizată printr-o multitudine de simptome tipice.

Printre altele, la animalele de experiență avitaminizate s-a observat o stagnare a creșterii în greutate, motiv pentru care această vitamină a primit inițial denumirea de *vitamina creșterii*. Această denumire nu este însă adecvată deoarece stoparea creșterii organismelor tinere nu este numai un simptom al avitaminozei A, ea putând fi determinată și de alți factori.

Simptomul caracteristic avitaminozei A îl constituie scăderea acuității și diminuarea capacității ochiului de a se adapta la lumina crepusculară. Acest lucru se explică prin participarea vitaminei A în procesul vederii. Pentru ca lumina externă să excite sistemul nervos în vederea formării imaginilor, ea este absorbită de pigmentii vizuali conținuți în conurile și bastonașele retiniene.

Sub acțiunea luminii, acești pigmenti suferă unele transformări chimice specifice. Principalii pigmenti retinieni sunt *rodopsina* și *porfiropsina* din bastonașe și, respectiv, *iodopsina* și *cianopsina* din celulele sub formă de conuri.

Rodopsina este o heteroproteină formată din opsină (componenta proteică) și 11-*cis*-retinal în calitate de grupare prostetică. În acest complex, retinalul conține două legături duble în conformație *cis*, iar retinalul rezultat prin descompunerea rodopsinei are conformație *trans*. Această transformare este ireversibilă. Din această cauză, organismul uman și animal are nevoie de un aport continuu de retinal în sânge (fig. 2.2).

Sub acțiunea unui stimul de origine încă necunoscută, *retinol-esterhidrolaza* eliberează retinolul din esterii săi acumulați în chilomicronii sanguini. Acesta se leagă imediat de pRBP (*plasmatic Retinol Binding Protein*) în vederea vehiculării.

La nivelul ficatului, retinolul poate fi transformat pe trei căi:

- oxidare reversibilă în retinal; acesta este transportat parțial în globul ocular, iar restul este oxidat în continuare în acid retinoic. Acidul retinoic nu este stocat și prezintă activitate vitaminică A parțială. În particular, acidul retinoic nu participă în procesul vederii și reproducerii;
- fosforilare cu formare mai întâi de retinol-fosfat și apoi de retinol-fosfat-manoză care intervine în biosinteza glicoproteinelor;
- conjugare cu acid glucuronic, conjugatele rezultate fiind excretate în bilă.

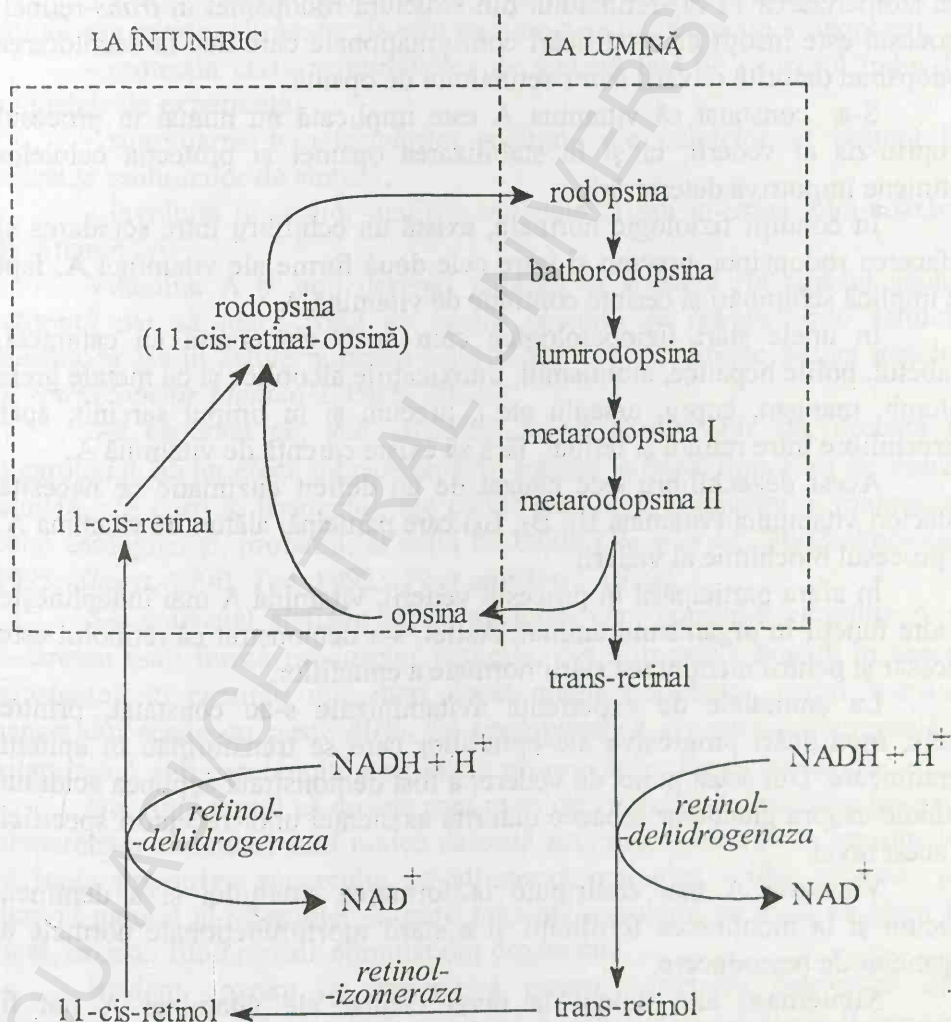


Figura 2.2. Implicarea vitaminei A în procesul vederii (Artenie, 1991).

Trans-retinalul format conform primei căi este redus la *trans*-retinol sub acțiunea *retinoldehidrogenazei* NAD^+ -dependente, acesta trece apoi în *11-cis*-retinol sub acțiunea *retinol-izomerazei*, după care se reoxidează cu formare de *11-cis*-retinal sub acțiunea *retinoldehidrogenazei* NAD^+ -dependente. Sub această formă, vitamina A este transportată la nivelul globului ocular unde se combină cu opsina (incoloră) cu formare de rodopsină (roșie). Această transformare are loc la întuneric.

Participarea vitaminei A în procesul vederii este prezentată schematic în figura 2.2. În segmentul extern al bastonașelor din retină are loc izomerizarea *11-cis*-retinalului din structura rodopsinei în *trans*-retinal. Procesul este însoțit de modificări conformaționale care duc la decolorarea rodopsinei datorită clivării *trans*-retinalului de opsină.

S-a constatat că vitamina A este implicată nu numai în procesul propriu-zis al vederii, ci și în stabilizarea opsinei și protecția celulelor retiniene împotriva deteriorării.

În condiții fiziologice normale, există un echilibru între scindarea și refacerea rodopsinei, precum și între cele două forme ale vitaminei A, fapt ce implică schimbări și cerințe continue de vitamină A.

În unele stări fiziopatologice cum ar fi glaucomul cu cataractă, diabetul, bolile hepatice, albinismul, intoxicațiile alcoolice și cu metale grele (plumb, mangan, cupru, arseniu etc.), precum și în timpul sarcinii, apar dezechilibre între retinol și retinal, fără să existe carență de vitamină A.

Acest dezechilibru este cauzat de un deficit enzimatic ce necesită cofactori vitaminici (vitamină B_1 , B_2 , B_6) care participă, alături de vitamina A, la procesul biochimic al vederii.

În afara participării în procesul vederii, vitamina A mai îndeplinește și alte funcții în organismul animal. Astfel, s-a demonstrat că retinolul este necesar și pentru menținerea stării normale a epitelilor.

La animalele de experiență avitaminizate s-au constatat, printre altele, modificări progresive ale epitelilor care se transformau în epitelii keratinizate. Din acest punct de vedere, a fost demonstrată acțiunea acidului retinoic asupra glandelor sebacee datorită existenței unor receptori specifici la acest nivel.

Vitamina A mai contribuie la formarea smalțului și a dentinei, precum și la menținerea fertilității și a stării morfofuncționale normale a organelor de reproducere.

Numeroase alte funcții la nivel celular ale vitaminei A pot fi explicate prin stimularea biosintezei de ARNm demonstrată pentru unele țesuturi. În felul acesta, biosinteza anumitor proteine este, de asemenea,

dependentă de vitamina A. A mai fost demonstrat rolul retinolului în diviziunea celulară, în secreția de mucus, stimularea imunitară, spermatogeneză etc.

Există numeroase ipoteze privind rolul vitaminei A în menținerea stabilității membranelor celulare, în stimularea biosintezei citocromului P₄₅₀, în reglarea metabolismului hormonilor steroizi, fără ca aceste funcții să fie demonstrate experimental (*Decimo and Mark*, 1980).

În ultimul timp, a fost sugerat și un rol antineoplazic preventiv al vitaminei A, ipoteză ce se bazează pe următoarele studii și observații:

- studii epidemiologice ce fac o corelație între concentrația serică de retinol sau aportul alimentar de provitamine A și incidența unor neoplazii;
- protecția certă a retinoizilor de sinteză față de cancerul indus la animalele de experiență;
- suprimarea transformărilor maligne ale celulelor în cultură în prezența retinoizilor de sinteză;
- involuția tumorilor maligne cutanate la om în urma administrării de vitamină A.

Vitamina A și unii derivați naturali ai acesteia (în special acidul retinoic) par să joace rolul de agenți capabili să retransforme celulele precanceroase în celule normale datorită acțiunii lor directe asupra genelor (*L'Encyclopédie Médicale*, Paris, 2003).

S-a observat că, atât vitamina A cât și derivații săi, precum și β -carotenul, au un efect anticanceros, în special în cazul tumorilor de vezică urinară, ale gurii și laringelui, ale căilor respiratorii, cancerului mamar, al celui esofagian și, probabil, al celui de colon (*Berg et al.*, 2002; *Rainaud*, 1995; *Shortt*, 1990; *Tee*, 1992; *Voet and Voet*, 1990).

S-a constatat statistic că, la subiecții care consumă vitamină A și β -caroten (sub forma produselor naturale, din alimentele bogate în aceste substanțe), în cantități mai mari decât media populației, riscul apariției cancerului scade cu peste 40%. Se presupune că acțiunea antitumorală a vitaminei A și β -carotenului s-ar datora proprietăților lor antioxidante.

Dat fiind faptul că dozele prea mari de vitamină A (mai ales în cazul preparatelor sintetice) sunt toxice datorită acumulării masive în hepatocite, în lupta împotriva cancerului se utilizează mai ales acidul retinoic, un derivat natural al vitaminei A, care prezintă avantajul de a nu se stoca în ficat, excesul fiind repede eliminat din organism.

Evident, extrem de importantă pentru prevenirea cancerului este alimentația echilibrată, bogată în vitamina A naturală, respectiv în β -caroten, în care caz se pare că efectele de hipervitaminoză nu sunt manifeste.

S-a mai constatat că vitaminele și provitaminele A mai posedă și proprietăți imunostimulatoare independente (retinolul stimulează biosinteza de anticorpi, iar β -carotenul stimulează reacția limfocitelor T-4). Din această cauză, vitamina A se asociază în tratamentul rujeolei, iar β -carotenul este asociat în tratamentul SIDA. Se pare că și licopenul (licopina), principalul carotenoid din tomate, ar poseda importante proprietăți imuno-stimulatoare.

Alături de vitamina E, carotenii mai prezintă și o importantă acțiune lipo-protectoare, împiedicând alterarea structurală a lipidelor, întâlnită în bolile degenerative, cancer, degenerescență cerebrală și în bolile cardio-vasculare.

De asemenea, β -carotenul diminuează viteza proceselor degenerative care sunt mult exacerbate într-o serie de situații speciale, cum ar fi expunerea excesivă la soare, tabagismul, diabetul zaharat etc. În fine, datorită rolului pe care îl joacă în procesul de diviziune celulară, vitamina A este absolut necesară dezvoltării normale a embrionului, copilului și adolescentului.

Multe din funcțiile non-vizuale ale vitaminei A sunt mediate de acidul retinoic, cu influență asupra genelor prin activarea receptorilor intracelulari. Funcțiile non-vizuale ale vitaminei A sunt esențiale în reacțiile imunologice, reproductive și ale dezvoltării embrionare a vertebratelor, fapt demonstrat de creșterea insuficientă, susceptibilitatea la infecții și defectele congenitale observate la populațiile care primesc cantități mai mici decât optimul de vitamină A din dietă.

Retinolul poate fi folosit ca tratament pentru acnee în creme, toate formele vitaminei A având uz extern și fiind utilizate în cosmetică și medicină. Acidul retinoic, retinil-palmitatul, izotretinoina și tretinoina sunt folosite și ele în medicină ca tratamente de suprafață pentru acnee și *keratosis pilaris*. În cosmetică, derivații vitaminei A intră în compoziția așa-numitelor preparate anti-îmbătrânire (vitamina A este absorbită prin piele, crește rata receptivității pielii și dă o creștere temporară în collagen, determinând astfel o înfățișare mai tânără).

O formă a acidului retinoic este utilizată, în prezent, în chimioterapie pentru leucemie promielocitică acută, un subtip de leucemie mielogenoasă acută. Aceasta se întâmplă deoarece celulele transformate ale acestui subtip răspund, de cele mai multe ori, la receptorul acidului retinoic (RAR).

Vitamina A este esențială pentru funcționarea corectă a celulelor epiteliale. În deficit de vitamină A, celulele secretoare de mucus sunt

înlocuite de celule care produc keratină, ceea ce conduce la xeroză. Vitamina A mai este implicată și în biosinteza glicoproteinelor. Astfel, în deficiențe severe de vitamină A, lipsa glicoproteinei poate duce la ulcere corneale sau lichefiere.

Vitamina A mai este esențială pentru păstrarea intactă a țesutului epitelial ca o barieră fizică împotriva infecțiilor; este implicată și în menținerea limfocitelor și celulelor T sănătoase. De asemenea, vitamina A poate fi necesară în hematopoieza normală, deficiența cauzând anormalități în metabolismul fierului.

2.1.8. Unități de activitate vitaminică A și necesități nutriționale

O unitate internațională (U.I.) de vitamină A este egală cu 0,33 mg retinol pur sau 1,7 mg β -caroten, respectiv 3,5 mg amestec de caroteni.

Necesarul zilnic de vitamină A pentru om a fost stabilit de Organizația Mondială a Sănătății (OMS) în funcție de vârstă (tabelul 2.2). Acest aport este considerat ca fiind necesarul zilnic minim de vitamină A de origine alimentară pentru menținerea unui nivel normal de retinol în organism (Bendich, 1989).

Tabelul 2.2

Necesarul zilnic de vitamină A pentru om*

Nr. crt.	Vârsta	U.I./zi	μ g retinol/zi
1	Copii		
	0 – 1 an	900	300
	1 – 3 ani	750	250
	4 – 6 ani	900	300
	7 – 10 ani	1200	400
	10 – 12 ani	1725	575
	13 – 15 ani	2175	725
	16 – 19 ani	2250	750
2	Adulți	2250	750
3	Femei care alăptează	3600	1200

*OMS, 1978 (Munnich et al., 1987)

Recent (2003), Linus Pauling Institute a stabilit, cu o mai mare exactitate, aportul zilnic recomandat de vitamină A pentru diverse categorii

de persoane (tabelul 2.3). În anumite cazuri patologice, administrarea de vitamină A este obligatorie. Pentru asemenea situații, același institut a stabilit valoarea dozelor maxime admise, fără riscul apariției simptomelor de intoxicație (tabelul 2.4).

Tabelul 2.3

Aportul zilnic recomandat de vitamină A (U.I./24 de ore)*

Subiecți	Vârsta	Băieți/bărbați	Fete/femei
Nou născuți	0 – 6 luni	1300	1300
Copii	7 – 12 luni	1700	1700
Copii	1 – 3 ani	1000	1000
Copii	4 – 8 ani	1300	1300
Copii	9 – 13 ani	2000	2000
Adolescenți	14 – 18 ani	3000	2300
Adulți	peste 19 ani	3000	2300
Femei însărcinate	sub 18 ani	–	2500
Femei însărcinate	peste 18 ani	–	4000
Femei care alăptează	sub 18 ani	–	4000
Femei care alăptează	peste 18 ani	–	4300

* Linus Pauling Institute, 2003 (Freeman, 2004).

Tabelul 2.4

Dozele maxime tolerate în tratamentele cu vitamină A (U.I./24 de ore)*

Nr. crt.	Subiecți	Vârsta	Doza maximă tolerată
1	Copii	0 – 12 luni	2000
2	Copii	1 – 3 ani	2000
3	Copii	4 – 8 ani	3000
4	Copii	9 – 13 ani	5700
5	Adolescenți	14 – 18 ani	9000
6	Adulți	peste 19 ani	10 000

* Linus Pauling Institute, 2003 (Freeman, 2004).

La nivel cutanat, se produce uscarea și descuamarea pielii, în special către sfârșitul iernii. În adolescență, apare hiperkeratoza foliculară pe față, torace, ceafă și pe fețele antero-laterale ale coapselor, iar unghiile prezintă striuri.

2.1.9. Tulburări de aport vitaminic

Hipovitaminoza A

Carența vitaminei A din alimente se manifestă, la om, printr-o serie de simptome clinice care, după gravitatea lor, au fost denumite **hemeralopie**, **xeroftalmie** și **keratomalacie**, boli ce vizează aparatul vizual. În afară de acestea, lipsa vitaminei A mai provoacă și alte simptome. Astfel, la sugari și copilul mic se observă perturbarea creșterii, anemia și limfocitoza și, uneori, litiaza urinară precum și tulburări de calcifiere.

Semnele oculare se manifestă, într-o primă fază, prin **nictalopie** (adaptarea slabă la trecerea de la lumină la întuneric) și **hemeralopie** (sau „orbul găinilor”) care constă în diminuarea acuității vizuale în lumina crepusculară. Nictalopia („orbirea de noapte”) poate exista din naștere sau poate fi cauzată prin răni sau malnutriție.

Cea mai comună cauză a nictalopiei este **retinis pigmentosa**, o tulburare în care celulele cu bastonaș din retină își pierd abilitatea de a reacționa la lumină.

Pacienții care suferă de această afecțiune genetică au nictalopie progresivă și, după o perioadă de timp, este posibil ca și vederea din timpul zilei să fie afectată.

În nictalopia congenitală staționară, celulele cu bastonaș nu funcționează încă de la naștere, dar, după cum sugerează numele, vederea bolnavilor nu se înrăutățește. Indivizii care suferă de nictalopie nu văd slab doar noaptea, ci necesită și un timp mai îndelungat pentru ca ochii lor să se adapteze de la lumină la întuneric. De asemenea, și vederea contrastuală poate fi grav afectată.

Hemeralopia („orbirea de zi”) este opusul nictalopiei. În cazul hemeralopiei, vederea diurnă scade calitativ în mod progresiv. Vederea de noapte rămâne neafectată datorită folosirii celulelor cu bastonaș în locul celor în formă de con (din timpul zilei), care sunt afectate de hemeralopie și degradează acuitatea vizuală o dată cu trecerea timpului. Se știe că hemeralopia apare în câteva tulburări ale ochiului.

Cataracta este cauza principală a vederii proaste datorită acoperirii cristalinului cu celule moarte. Acest strat obturant dispersează lumina înainte ca aceasta să ajungă la retină. O altă cauză este o tulburare genetică numită sindromul Cohen (numit și sindromul Pepper).

Transformările care au loc sunt reversibile, simptomele fiind înlăturate rapid prin administrare de vitamină A. Această fază a avitaminozei este, în general, greu de diagnosticat, mai ales la sugari și copii mici.

Dacă avitaminoza A se accentuează, fenomenele degenerative progresează, producând **xeroftalmia**. Aceasta se manifestă prin hiperkeratoza conjunctivei care capătă un aspect uscat. Ochiul își pierde luciul, iar conjunctiva se încrețește, dând senzația de corp străin în ochi. Corneea devine rugoasă, insensibilă la atingere deoarece secreția lacrimală scade, ea nemaifiind protejată de efectul protector și nutritiv al lacrimilor, în primul rând în dreptul fantelor palpebrale. Scăderea rezistenței la infecții se explică prin dispariția din lacrimi a IgA, IgG, lactotransferinei și lizozimului, putând să apară infecții secundare.

Xeroftalmia survine mai ales la sugari și copiii mici, fiind mai frecventă la băieți decât la fete. Ea poate progresa rapid în lipsa vitaminoterapiei, putând conduce la orbire într-un interval de timp relativ scurt (uneori chiar de câteva ore).

Avitaminoza A avansată conduce la **keratomalacie**, maladie care se manifestă prin înmuierea și tumefierea corneei concomitent cu o atrofie a sa și o regresivitate a globului ocular. Dacă nu se instituie tratamentul adecvat, necroza corneei progresează rapid, orbirea producându-se la ambii ochi.

Hemeralopia, xeroftalmia și keratomalacia sunt simptome specifice ale avitaminozei A, în timp ce alte simptome ale carenței de vitamină A cum ar fi xerodermia, leziunile cutanate, hiperkeratoza foliculară, stoparea creșterii, afecțiuni ale aparatului respirator etc. nu se datorează numai carenței de vitamină A.

S-a constatat că vitamina A joacă un rol indispensabil în dezvoltarea normală a țesutului osos printr-o acțiune specifică pe care o manifestă asupra osteoblaștilor și osteoclaștilor oaselor aflate în creștere. De aceea, carența acestei vitamine determină deformări osoase cu efecte grave asupra structurilor nervoase vecine.

Un alt efect al carenței acestei vitamine îl constituie afectarea creșterii staturo-ponderale, a dezvoltării dinților, atrofia emailului dentar și modificări în acumularea dentinei. La organisme tinere, s-a observat stoparea diviziunii celulare din cartilajele de conjugare și atrofia celulelor formate.

Unii autori presupun că litiaza urinară la copii poate fi cauzată de hipovitaminoza A datorită faptului că leziunile epiteliale urinare favorizează constituirea depozitelor de urați, iar calculoza renală este relativ frecventă în acele regiuni geografice în care se observă cazuri numeroase de xeroftalmie.

Deficiența de vitamină A diminuează abilitatea de a combate infecțiile. În țările în care copiii nu sunt imunizați, bolile infecțioase precum pojarul au rate de mortalitate mai ridicate. Deficiența poate fi o problemă și

pentru că poate crește riscul copiilor de a dezvolta infecții respiratorii și diareice, scăderea gradului de creștere, dezvoltarea greoaie a oaselor și descreșterea șanselor de supraviețuire în urma unor boli grave.

Consumul excesiv de alcool distruge vitamina A, deși un ficat solicitat poate fi mai susceptibil toxicității cu vitamină A. Persoanele care consumă cantități mari de alcool ar trebui să consulte un medic înainte să ia suplimente de vitamină A.

Avitaminoza A secundară se poate întâlni în diverse situații cum ar fi icterul obstructiv sau fistula biliară care conduc la diminuarea drastică a cantității de bilă din tractul digestiv, când dieta este săracă în grăsimi, precum și în hipoproteinemie care conduce la perturbarea transportului vitaminei A la nivel sanguin, aceasta fiind legată de o α_1 -globulină (RBP). Această diminuare a suportului proteic de transport al retinolului este frecventă în cazurile de malnutriție proteinică gravă.

Hipervitaminoza A

Prea multă vitamină A poate fi dăunătoare sau chiar fatală. Organismul convertește forma dimerizată, caroten, în vitamină A pe măsură ce este necesară, deci niveluri înalte de caroten nu sunt toxice în comparație cu formele de ester.

Hipervitaminoza A conduce la apariția unor simptome cum ar fi infecții ale globului ocular, cașexii, căderea părului etc. Hipervitaminoza experimentală pe animale de laborator conduce la intoxicație care se manifestă prin pierderea în greutate, dispariția luciului blănii, căderea părului, edeme ale botului și ochilor, decalcifiere și hemoragii interne. S-a observat o excreție intensă a 17-cetosteroizilor și creșterea permeabilității membranelor celulare și mitocondriale.

La om, fenomenele de intoxicație cu vitamina A apar atunci când se ingeră cantități mari de retinol. Astfel, la eschimoși, consumul de ficat de urs alb și al cantităților mari de pește provoacă intoxicații manifestate prin vărsături, cefalee, amețeli și fisuri ale pielii în jurul gurii (fisuri labiale). Ficatul anumitor animale, în special cele adaptate mediului polar, conține, de obicei, cantități de vitamină A care ar fi toxice pentru oameni.

Primul deces documentat din cauza otrăvirii cu vitamină A este cel al lui *Xavier Mertz*, un om de știință elvețian, care a murit în ianuarie 1913 într-o expediție în Antarctica, când proviziile de mâncare au fost epuizate și s-a recurs la sacrificarea și consumarea ficatului căinilor care trăgeau săniile.

Excesul de vitamină A a fost suspectat ca fiind implicat în apariția osteoporozei. De asemenea, β -carotenul a fost asociat cu o creștere în riscul cancerului pulmonar la bărbații fumători.

În timpul tratamentului cu vitamină A la copii, în cazul unor afecțiuni dermatologice sau în scopul stimulării creșterii, când dozele sunt prea mari, pot apărea intoxicații cronice care se manifestă prin prurit anal sau vaginal, cefalee, dureri articulare, fisuri hemoragice ale comisurilor bucale, xerodermie, insomnie, anorexie, căderea părului, splenomegalie, transpirații nocturne etc.

Administrarea de doze toxice la gravide determină apariția de malformații la copii. Excesul de vitamină A mai determină hipertensiune intracraniană care, la rândul ei, produce edem papilar de stază cu hemoragii.

Fenomenul de hipervitaminoză A se explică prin faptul că această vitamină se stochează sub formă de retinol în ficat deoarece organismul uman nu are capacitatea de a degrada și elimina excesul de vitamină A decât într-o proporție de maximum 0,5% din rezerve în 24 de ore. Intoxicația acută cu vitamină A survine, de regulă, după administrarea, într-o singură doză, a peste 500 000 U.I. și se caracterizează prin hipertensiune intracraniană care provoacă amețeli, senzația de greață, hemoragie etc.

Intoxicația cronică este mult mai periculoasă și insidioasă în același timp și survine în cazul administrării regulate de vitamină A în doze de câteva zeci de mii de U.I. timp îndelungat (luni sau chiar ani). Simptomele intoxicației cronice constau în dureri de cap, căderea părului, stomatite, conjunctivite, afecțiuni hepatice (mergând chiar până la ciroză), dureri osoase și ale articulațiilor etc.

O atenție deosebită trebuie acordată femeilor însărcinate, deoarece în perioada de sarcină este total contraindicat tratamentul cu vitamină A și carotenoizi de sinteză. În ceea ce privește vitaminoterapia A în timpul sarcinii apare un paradox. Pe de o parte vitamina A este absolut necesară reproducerii și dezvoltării normale a fătului, iar, pe de altă parte, administrarea în exces a acestei vitamine și a carotenoizilor sintetici poate determina apariția de malformații ale fătului. Din această cauză, cel puțin pentru primul trimestru de sarcină, soluția optimă o reprezintă alimentația echilibrată, naturală, a viitoarei mame.

În general, se consideră că riscul de intoxicații cu vitamină A apare la administrarea unor doze de 20 – 50 ori mai mari decât necesarul zilnic. Diagnosticarea intoxicației cu vitamină A se face prin dozarea acesteia în ficat (biopsie); în aceste cazuri, conținutul hepatic de vitamină A este mai mare de 3000 $\mu\text{g/g}$ țesut.

2.1.10. Grupe de risc

Date din literatura de specialitate atestă faptul că există numeroase categorii de populație pentru care necesarul zilnic de vitamină A este diferit de cel stabilit prin normele OMS, aceste categorii reprezentând așa-numitele grupe de risc.

O primă grupă de risc o reprezintă femeile însărcinate. Carența în vitamină A și β -caroten determină o dezvoltare insuficientă a fătului și crește puternic riscul nașterii premature. Fumătorii și persoanele ce lucrează în medii toxice reprezintă o altă grupă de risc. La fumători, nivelul vitaminei A și β -carotenului sanguin scade la valori ce reprezintă sub 40% comparativ cu nefumătorii.

La persoanele de vârstă a treia, carența în vitamină A determină apariția anemiei macrocitare, scăderea imunității, afecțiuni cutanate (cicatrizare întârziată, escare etc.). De asemenea, carența în vitamina A conduce la creșterea toxicității multor medicamente prin diminuarea drastică a vitezei degradării lor în hepatocite.

La alcoolicii cronici, necesarul zilnic de vitamină A este mult crescut comparativ cu indivizii normali datorită faptului că alcoolul distruge rezervele de retinol din ficat. În cancer și la persoanele seropozitive, carența în vitamina A conduce la scăderea drastică a imunității.

Expunerea prelungită la soare conduce la o scădere puternică a conținutului de β -caroten în piele și plasma sanguină ceea ce antrenează diminuarea sau chiar anularea efectului fotoprotector al acestei provitamine.

2.1.11. Sinergie

Vitamina A prezintă o acțiune sinergică cu alți antioxidanți: vitamina E care împiedică oxidarea retinolului în organism și vitamina C.

O altă acțiune sinergică o manifestă zincul care este implicat în mobilizarea retinolului, iar unii retinoizi de sinteză, precum și medroxi-progesteronul, determină creșterea nivelului vitaminei A în organism.

2.1.12. Derivați sintetici ai vitaminei A

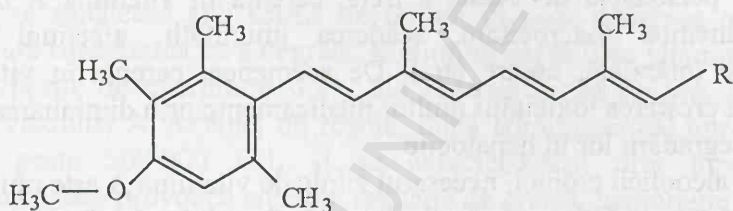
Retinoidele constituie o clasă de compuși chimici cu acțiune terapeutică ce conțin formele naturale și analogii sintetici ai vitaminelor A. Apariția de hiperkeratoze cutanate și metaplazii ale mucoaselor la animalele

avitaminizate au trezit interesul cercetătorilor pentru utilizarea vitaminei A în dermatologie și oncologie.

Primele retinoide de sinteză au fost obținute în 1968. Astăzi se cunosc peste 1500 de retinoide sintetice testate clinic.

În general, moleculele retinoidelor de sinteză sunt formate din trei segmente după modelul retinolului: o grupare ciclică, o catenă polienică și o grupare polară. Prima generație de retinoide cuprinde toți metaboliții naturali ai vitaminei A, mai importanți fiind acidul *all-trans*-retinoic (sau tretinoina) și acidul 13-*cis*-retinoic (sau izotretinoina).

Prin transformarea grupării ciclice s-au obținut retinoide sintetice din generația a doua sau retinoidele aromatice printre care etretinatul, acidul *p*-trimetil-metoxifenil-retinoic (etretina) și motretinida:

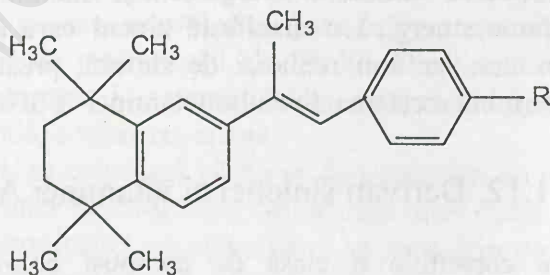


R: — COOH etretina

R: — OCO — C₂H₅ etretinat

R: — OCO — NH — C₂H₅ motretinida

Generația a III-a de retinoide s-a obținut prin ciclizarea catenei polienice, cu formarea așa numitelor arotinoide. Acești derivați sunt activi în doze mult mai mici.



arotinoide

Activitatea biologică a acestor retinoide sintetice este extrem de diferită. Alegerea acelor compuși susceptibili de a fi utilizați în testările clinice s-a făcut printr-un model experimental ce include testarea proprietăților antikeratozice și antitumorale.

În ceea ce privește ultimul aspect, experimentele s-au făcut pe șoareci ce prezentau papilom indus de benzantracen. Această tumoare benignă se caracterizează prin proliferare celulară la nivelul epidermei și hiperkeratoză. Ea poate degenera în epiteliom spino-celular.

Înainte de selecționarea produșilor cu activitate antikeratozică importantă, dar cu acțiune hipervitaminică minoră a fost definit un index terapeutic pentru fiecare dintre aceste substanțe. Acesta reprezintă raportul între doza minimă ce produce hipervitaminaza A și doza administrată timp de 14 zile și care provoacă o regresie cu 50% a volumului papilomului.

S-a găsit că indexul terapeutic al acidului 13-*cis*-retinoic este de 2,5 ori mai mare decât al acidului *all-trans*-retinoic în timp ce, indexul retinoidelor aromatice și arotinoidelor este de 10 ori mai mare. Dacă se ia în considerație numai activitatea arotinoidelor asupra regresiei papilomului, acestea sunt de 8000 de ori mai active decât acidul *all-trans*-retinoic.

Retinoidele controlează diviziunea și diferențierea epitelială prin inducerea unei subțieri a stratului cornos care devine moale. Această acțiune explică efectele secundare la nivel cutanat ale tratamentului cu retinoide.

Studii ultrastructurale pun în evidență modificări keratinocitare citoplasmatică cu fragilitate lizozomială, edem perinuclear și acumulări de mucină în citoplasmă și spațiul intercelular. Aceste modificări morfologice se explică prin faptul că retinoidele diminuează nivelul precursorilor keratinei și stimulează biosinteza glicoconjugatelor membranare. Retinoidele influențează, de asemenea, activitatea unor enzime implicate în diviziunea celulară printre care *transglutaminaza* epidermică și *ornitindecarboxilaza*.

Izotretinoina diminuează puternic unele fenomene inflamatorii: eriteme, edeme etc. prin inhibarea enzimelor lizozomiale, mediatori ai inflamației și chimiotactismul polinuclearelor.

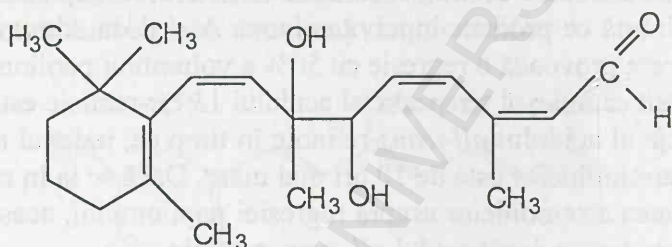
Etretinatul diminuează mobilitatea neutrofilelor și eozinofilelor, precum și migrarea lor intracpidemică, exocitoza polinuclearelor neutrofile fiind un indiciu histologic al psoriazisului. Retinoidele mai stimulează celulele Langerhans care joacă un rol activ în fenomenul imunitar.

Retinoidele sunt substanțe teratogene, dar nu sunt mutagene. Femeile aflate la vârsta de procreare trebuie să utilizeze contraceptive eficiente cel puțin o lună după întreruperea tratamentului cu izotretinoină și cel puțin un an după tratamentul cu etretinat, sarcina fiind o contraindicație absolută.

Tratamentul cu retinoide în timpul sarcinii poate produce avortul spontan sau malformații ale fătului (micro- și hidrocefalie, anomalii ale vaselor sanguine, malformații la nivelul urechii externe etc.). La bărbați, tratamentul cu retinoide pare să nu conducă la modificări ale spermatogenezei.

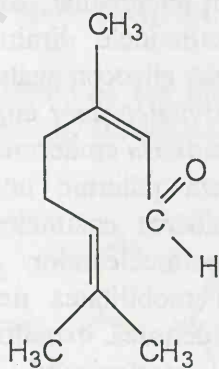
2.1.13. Antivitamine A

Primul compus cu proprietăți antivitaminice A a fost sintetizat de *Meunier* și este un derivat hidroxilat al retinalului cu acțiune toxică:



dihidroxi-retinal

S-a mai observat că administrarea de citral la animale de experiență provoacă keratomalacie și degenerescență retiniană. Majoritatea autorilor includ citralul în clasa antivitaminelor A.



citral

Simptomele hipo- și avitaminozei A mai pot apărea în unele situații speciale, chiar dacă hrana conține cantități suficiente de provitamine și vitamină A.

Cel mai adesea, aceste fenomene apar în cazul tulburărilor de absorbție la nivel intestinal a vitaminei A și β -carotenului cauzate de utilizarea prelungită a laxativelor pe bază de uleiuri minerale, a uleiului de parafină, a medicamentelor hipocolesterolemizante (*Questran*®, *Colestid*® etc.), a unor antibiotice (cum ar fi de exemplu Neomicina), a pansamentelor gastrice pe bază de hidroxid de aluminiu, a unor antiepileptice (Fenobarbital) etc.

2.2. Vitamina D (calciferol, vitamina antirahitică)

2.2.1. Generalități

Una dintre cele mai răspândite boli la copii a fost rahitismul sau „boala englezească” descrisă încă din anul 1650. Această boală se întâlnea în mod deosebit la copiii subnutriți din marile orașe europene și, în special din Anglia, incidența fiind mult mai mică în țările sudice care sunt mai însorite și în țările regiunii polare.

Abia în 1906 s-a demonstrat că rahitismul este rezultatul unei alimentații necorespunzătoare, asemănătoare cu beri-beri sau scorbutul. În aceeași perioadă, medicul pediatru *K. Huldsinchi* din Berlin vindecă unui copil de rahitism prin expunerea lor la soare sau cu raze ultraviolete, iar *Merllambi* utilizează untura de pește. Cercetări ulterioare au demonstrat faptul că factorul antirahitic din untura de pește este diferit de retinol, fiind denumit vitamina D.

Ulterior, s-a demonstrat că unele alimente de origine vegetală sau animală, fără potențial antirahitic, devin active prin iradiere cu raze ultraviolete. S-a concluzionat astfel că, în piele și hrană, există provitamina D care este transformată în vitamină sub acțiunea luminii.

Prin expunerea la lumina ultravioletă a diferitelor componente ale hranei s-a stabilit că părțile nesaponificabile ale grăsimilor dobândesc, după iradiere, activitate vitaminică D. S-a demonstrat că, prin iradiere în UV, colesterolul pur nu capătă proprietăți vitaminice D, în timp ce colesterolul impurificat iradiat prezintă proprietăți antirahitice (*Dumitru*, 1970). În 1926 s-a stabilit că banda de absorbție specifică colesterolului impur se situează la 260 nm, în timp ce, pentru colesterolul pur, ea este mult mai mică.

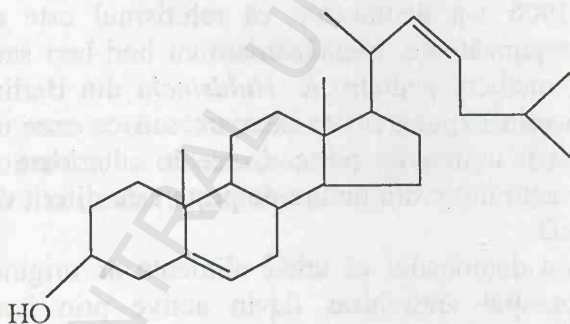
Studiul steroizilor cunoscuți în acel timp a arătat că numai ergosterolul prezintă maximum de absorbție la 280 nm, presupunându-se că joacă rol de provitamină D. Acest sterol se găsește în cantități variabile în drojdia de bere, *Claviceps purpurea* etc.

Prin administrarea ergosterolului iradiat șobolanilor și puilor de găină avitaminizați s-a constatat că el este mult mai activ la șobolan. S-a concluzionat că pot exista mai mulți compuși cu acțiune vitaminică D. În 1930, prin distilarea amestecului rezultat prin iradierea ergosterolului, Webster și Askew obțin un produs cu efect antirahitic pe care îl denumesc vitamină D₁. Ulterior, s-a demonstrat că acesta este un amestec al hemisterinei cu calciferolul, denumit mai târziu vitamina D₂.

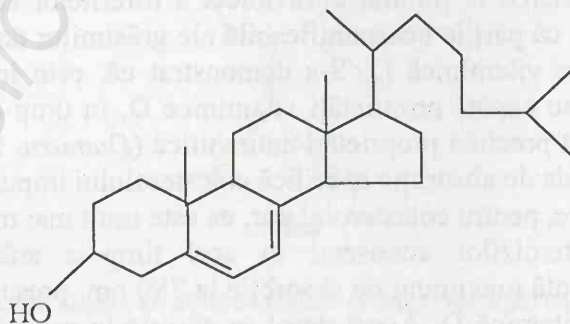
2.2.2. Structura chimică a provitaminelor și a vitaminelor D

În prezent, se cunosc mai multe vitamine D care, din punct de vedere structural, fac parte din clasa steroizilor alături de alți steroli, acizi biliari, hormoni sexuali, hormoni corticosuprarenali și genine (Holick, 1994).

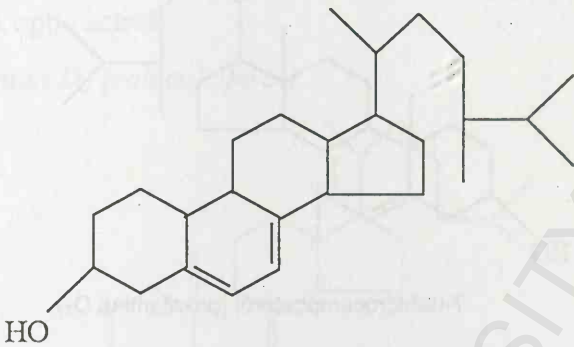
Toți acești compuși au comun scheletul tetraciclic al ciclopentano-perhidrofenantrenului. Principalele provitamine D cunoscute până în prezent sunt următoarele:



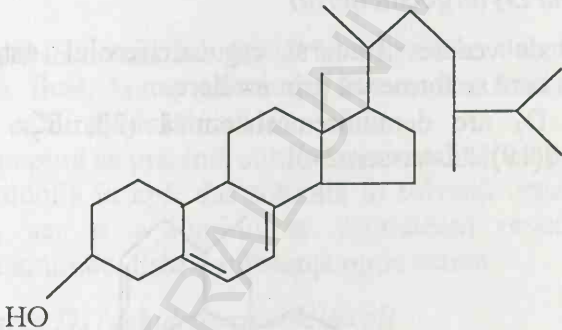
ergosterol (provitamina D₂)



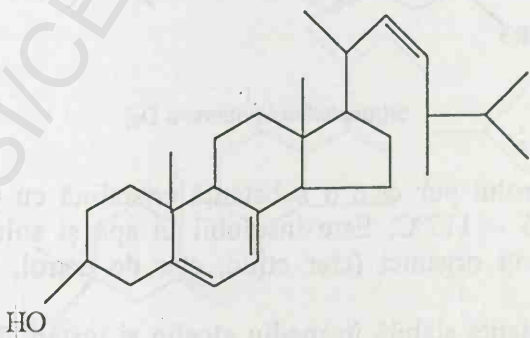
7-dehidrocolesterol (provitamina D₃)



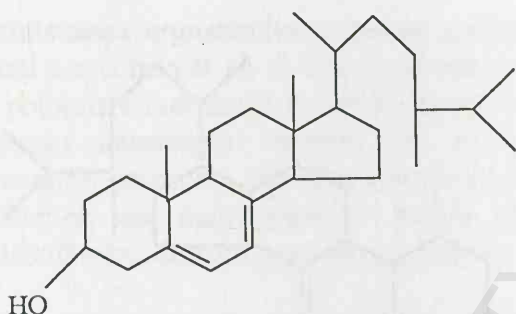
22-dehidroergosterol (provitamina D₄)



7-dehidrositosterol (provitamina D₅)



7-dehidrostigmasterol (provitamina D₆)

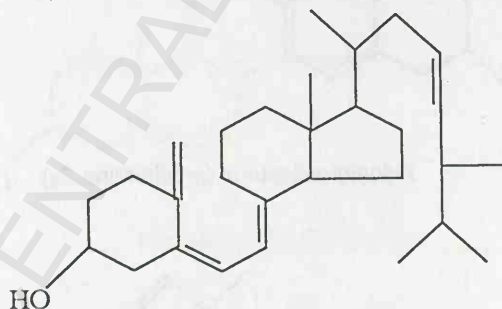
7-dehidrocomposterol (provitamina D₇)

Prin iradierea în ultraviolet a provitaminelor D, până în prezent s-au obținut mai multe vitamine D (notate cu D₂ până la D₇), toate purtând numele generic de calciferol.

a) Vitamina D₂ (ergocalciferol)

Din punct de vedere structural, ergocalciferolul este un izomer al ergosterolului din care se formează prin iradiere.

Vitamina D₂ are denumirea sistemică (3β, 5ζ, 7ε, 22ε)-9,10-secoergosta-5,7,10(19), 22-tetraen-3-ol.

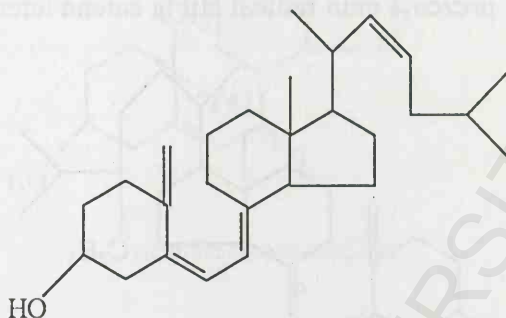
ergocalciferol (vitamina D₂)

Ergocalciferolul pur este o substanță cristalină cu punct de topire cuprins între 114,5 – 117°C. Este insolubil în apă și solubil în grăsimi, uleiuri și în solvenți organici (eter etilic, eter de petrol, benzen, alcool, cloroform etc.).

Este o substanță stabilă în mediu alcalin și instabilă în mediu acid. Prin tratare termică la temperaturi mai mari de 180°C, timp de 4 ore, se degradează pierzându-și activitatea vitaminică. Ergocalciferolul poate fi

separat de ergosterol datorită faptului că vitamina nu precipită cu digitonină; este o substanță optic activă.

b) Vitamina D₃ (colecalfiferol)



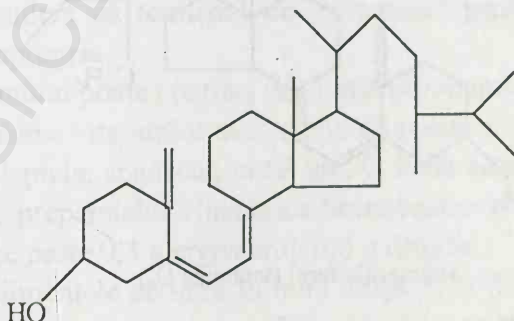
colecalfiferol (vitamina D₃)

Se găsește în natură sub formă liberă, alături de provitamina D₃ în untura de pește, ficat, lapte, gălbenușul de ou etc. Unii autori consideră colecalfiferolul ca fiind adevărata vitamină D.

Substanța pură se prezintă sub formă cristalină, cu punct de topire de 82 – 84°C, insolubilă în apă, dar solubilă în solvenți organici. În prezența oxigenului din aer și a luminii se degradează repede cu pierderea proprietăților vitaminice. Este o substanță optic activă.

c) Vitamina D₄ (dehidroergocalciferol)

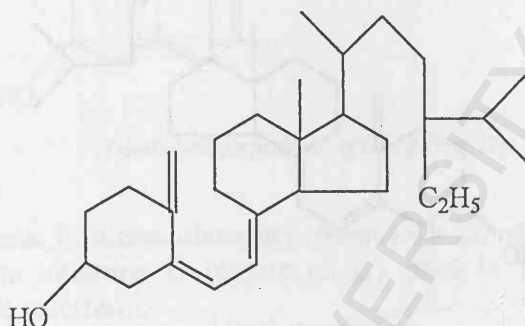
Este o substanță cristalină, optic activă, cu punct de topire la 180°C. Se deosebește de vitamina D₃ prin lipsa legăturii duble și prezența unui radical metil suplimentar în catena laterală:



dehidroergocalciferol (vitamina D₄)

d) Vitamina D₅ (sitocalciferol)

Se prezintă sub formă cristalină și este o substanță optic activă, cu punct de topire 144 – 145°C. Din punct de vedere structural, se deosebește de vitamina D₄ prin prezența unui radical etil la catena laterală:

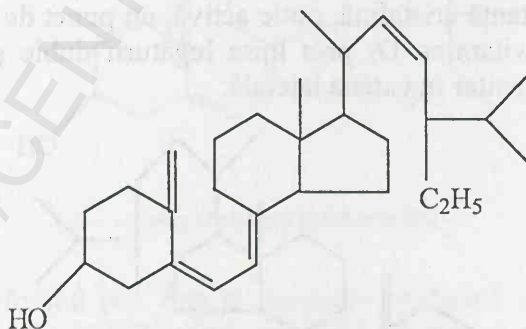


sitocalciferol (vitamina D₅)

Ca toate vitaminele D, sitocalciferolul este insolubil în apă și solubil în solvenți organici.

e) Vitamina D₆ (stigmatcalciferol)

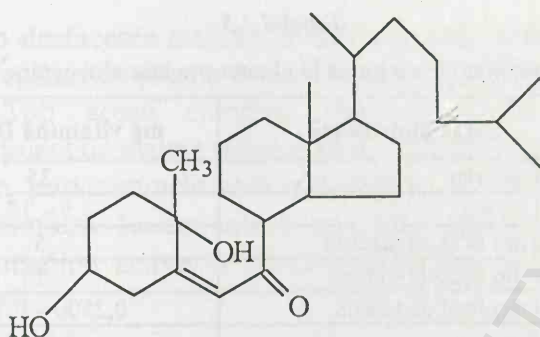
Substanța pură este cristalină, optic activă, cu punct de topire de 154°C, solubilă în solvenți organici. Spre deosebire de sitocalciferol, prezintă o legătură dublă la catena laterală:



stigmatcalciferol (vitamina D₆)

f) Vitamina D₇ („cetona 250”)

Prezintă mai mult o importanță teoretică decât terapeutică.



vitamina D₇ (cetona 250)

Se găsește în cantități destul de mari în ficatul unor pești și în graminee. Denumirea sa se datorează faptului că această substanță conține o grupare cetonă și prezintă un maximum de absorbție la 250 nm.

A fost obținută și pe cale sintetică sub forma unui enolat de calciu stabil.

2.2.3. Stare naturală

Provitaminele D se întâlnesc atât în organismele vegetale cât și animale sub formă de steroli. Se mai găsesc provitamine D în levuri, ciuperci inferioare și superioare etc.

La plante, predomină fitosterolii, sitosterolul și stigmatosterolul, mai ales în polen. În organismele animale și la om predomină 7-dehidrosterolul.

Legat de ambivalența surselor de vitamine D-exogene și endogene – unii autori consideră că termenul de „vitamine” pentru această clasă de compuși ar fi impropriu.

Hrana omului poate conține, deci, atât provitamine cât și vitamine D. Cele mai bune surse vitaminice sunt uleiul de pește, slămina cu șorici, peștii marini, ficatul, laptele, spanacul, untul etc. O bună sursă de provitamină D₂ pentru obținerea preparatelor vitaminice farmaceutice o constituie drojdia de bere care conține peste 0,3 g ergosterol/100 g drojdie.

Dintre alimentele ce intră în mod obișnuit în dieta zilnică a omului, cele mai bune surse de vitamină D sunt alimentele bogate în grăsimi (tabelul 2.5).

Tabelul 2.5

Conținutul în vitamină D al unor produse alimentare *

Nr. crt.	Sursa alimentară	mg vitamină D / 100 g
1	Ulei de crap	25
2	Ulei de ton	5 – 15
3	Ulei din ficat de macrou	5
4	Ulei din ficat de somon	1
5	Ulei din ficat de morun	0,2500 – 0,7500
6	Sardele	0,0400
7	Ton	0,0250
8	Macrou	0,0150 – 0,085
9	Somon	0,0090
10	Heringi	0,0060
11	Unt	0,0025
12	Ou de găină	0,0020
13	Gălbenuș de ou	0,0070
14	Ficat de găină	0,0020

*L'Encyclopédie Médicale, Paris, 2003.

2.2.4. Metabolismul provitaminelor și vitaminelor D

2.2.4.1. Transformarea provitaminelor D în vitamine D

Aceste transformări au fost demonstrate pentru prima dată în 1932 de către Windaus care arată că, sub acțiunea radiațiilor ultraviolete, provitaminele D sunt convertite în vitamine D. Ulterior, s-a demonstrat că această conversie se poate realiza și sub acțiunea razelor catodice, a curenților de înaltă frecvență și a altor factori.

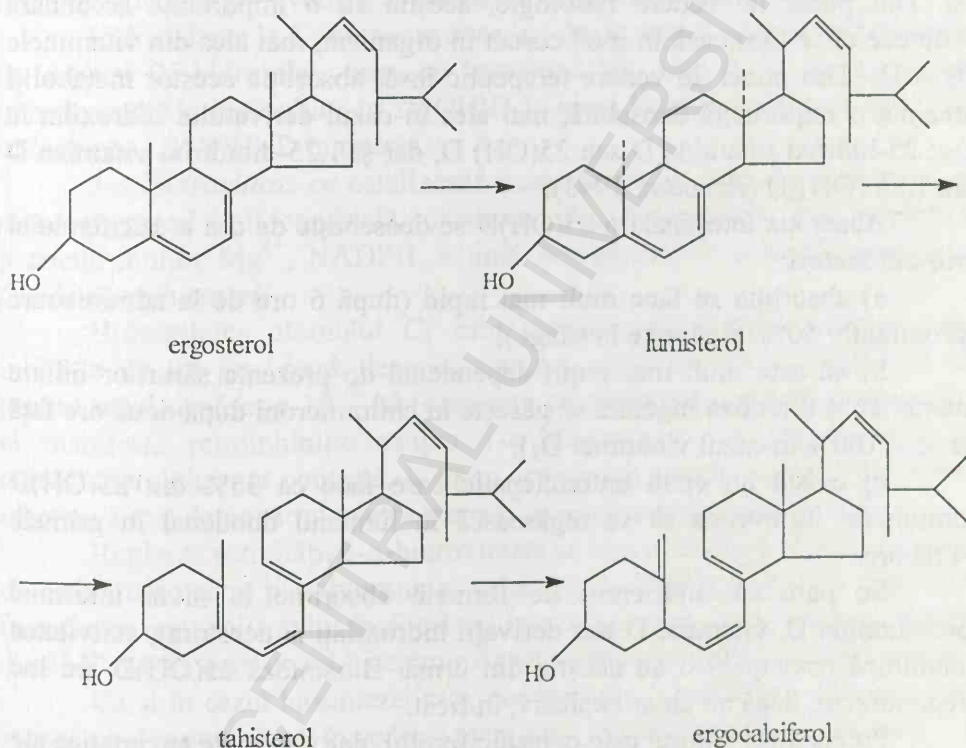
Reacțiile de activare a provitaminelor sunt ireversibile și au loc la lungimi de undă cuprinse între 225 – 313 nm. În experimentele *in vitro*, continuarea iradierii după conversia provitaminelor în vitamine D conduce la formarea unor derivați toxici cum ar fi toxisterolul, suprasterolul I, suprasterolul II, pirocalciferolul etc.

În general, mecanismele conversiei provitaminelor D sunt cunoscute și sunt asemănătoare pentru toate formele vitaminei D. De exemplu, transformarea ergosterolului în ergocalciferol are loc în etape, sub acțiunea razelor ultraviolete.

În prima etapă – conversia ergosterolului în lumisterol – are loc o permutare sterică a grupelor metil 18 și 19. Lumisterolul format trece apoi

în tahisterol prin desfacerea ciclului B sub acțiunea razelor UV. Existența celor trei duble legături conjugate face ca acesta să fie puțin stabil trecând în ergocalciferol. Toți acești compuși intermediari au fost izolați și caracterizați din punct de vedere fizico-chimic, structural și biologic.

La plante, provitaminele se transformă în vitamine concomitent cu procesul de fotosinteză. La animale și om, 50 – 75% din provitamine se convertesc în vitamine active la nivelul epidermei sub acțiunea razelor ultraviolete:



În continuare, atât ergocalciferolul endogen, sintetizat la nivel cutanat, cât și cel exogen, după absorbția la nivel intestinal, se leagă de o proteină de transport specifică, formă sub care este vehiculat de către sânge în tot organismul.

2.2.4.2. Absorbția intestinală

Calciferolul exogen este absorbit la nivelul intestinului subțire în proporție de 77 – 79% după înglobarea sa în miceliile formate de acizii grași

liberi, sărurile biliare și monogliceride. Absorbția calciferolului este un proces foarte lent: după două ore, în sânge se află aproximativ 2% din doza ingerată, iar după 12 ore doar 40% (Fournier, 1985).

Calciferolul este absorbit, în principal, la nivelul duodenului și jejunului. La nivel sanguin, calciferolul interacționează cu o proteină D specifică (*Vitamin D Binding Protein* – DBP) după care, sub această formă trece în derivatul activ dihidroxilat (1,25-dihidroxicolecalciferol).

Alături de calciferol, pot fi absorbiți la nivel intestinal și metaboliții săi. Din punct de vedere fiziologic, aceștia au o importanță secundară deoarece ei se formează în mod curent în organism, mai ales din vitaminele D₂ și D₃. Din punct de vedere terapeutic însă, absorbția acestor metaboliți prezintă o importanță deosebită, mai ales în cazul derivatului hidroxilat la C₂₅: 25-hidroxi-vitamina D sau 25(OH) D, dar și 1,25-dihidroxi-vitamina D sau 1,25 (OH)₂D (Racadot, 1993).

Absorbția intestinală a 25(OH)D se deosebește de cea a calciferolului prin trei factori:

a) absorbția se face mult mai rapid (după 6 ore de la administrare aproximativ 50% se găsește în sânge);

b) ea este mult mai puțin dependentă de prezența sărurilor biliare (numai 10% din doza ingerată se găsește în chilomicroni după două ore față de 45 – 100% în cazul vitaminei D₃);

c) există un ciclu enterohepatic care face ca 35% din 25(OH)D administrat intravenos să se regăsească în lumenul duodenal în primele 24 de ore.

Se pare că, indiferent de formele absorbite la nivel intestinal (provitamine D, vitamine D sau derivații hidroxilați ai acestora), activitatea vitaminică principală o au aceștia din urmă. Biosinteza 25(OH)D are loc preponderent, dacă nu chiar exclusiv, în ficat.

Precursorul natural este coilecalciferolul, dar sistemele enzimatice ale acestei secvențe metabolice mai pot hidroxila ergocalciferolul precum și unele preparate sintetice utilizate clinic printre care și tahisterolul și 1- α -hidroxicalciferolul. Controlul acestor activități biocatalitice rămâne neelucidat. Dacă el există, cu siguranță că funcționează numai față de substanțele naturale și la concentrații ale acestora relativ mari (peste 0,15 mg/g țesut hepatic). Este, de asemenea, discutabilă localizarea acestor sisteme enzimatice – microsomală sau mitocondrială – ea putând depinde de tipul și de concentrația substratului.

Procesul are loc sub acțiunea enzimei numită *calciferol-25-hidroxilază* care este o monooxygenază citocrom P₄₅₀-dependentă. Tot în

ficat are loc și biosinteza proteinei de transport a calciferolilor și a derivaților lor (DBP – *vitamin D Binding Protein*).

Conversia *in vitro* a colecalciferolului în 25(OH)D este foarte rapidă în timp ce, *in vivo* acest derivat poate fi detectat mult mai târziu (după 24 de ore până la 4 zile de la injectarea intravenoasă a vitaminei D₃).

Biosinteza 1,25(OH)₂D are loc în principal în rinichi, chiar dacă hidroxilarea 25(OH)D cu formarea 1,25(OH)₂D poate avea loc și în alte organe și țesuturi, în condiții speciale: celulele osoase în cultură, ganglionii limfatici, macrofagii alveolari ai plămânului, sistemul feto-placentar etc.

Hidroxilarea la C₁ nu poate avea loc decât atunci când substratul este un derivat 25-hidroxilat, ceea ce înseamnă că, mai întâi, va avea loc transformarea calciferolilor în 25(OH)D la nivel hepatic pentru ca, apoi, să se formeze 1,25(OH)₂D în rinichi.

1-α-Hidroxilaza ce catalizează această reacție este, de asemenea, o *monoxygenază* mitocondrială citocrom P₄₅₀-dependentă care necesită prezența ionilor Mg²⁺, NADPH, a unei hemoproteine, a feredoxinei și a *feredoxin-reductazei*.

Hidroxilarea atomului C₁ este supusă unui riguros control prin inhibiție de tip *feed-back* deoarece, atunci când nivelul 1,25(OH)₂D în țesutul renal depășește 10⁻¹⁰ M (care este concentrația normală circulantă), el manifestă retroinhibiție asupra *1-α-hidroxilazei*. Și alți derivați ai colecalciferolului pot controla, *in vivo*, activitatea acestei enzime, dar acest efect nu a fost demonstrat pentru steroizii sexuali sau glucocorticoizi.

Reglarea activității *1-α-hidroxilazei* se mai realizează și prin acțiunea de activare de către parathormon și calcitonină, două polipeptide implicate în reglarea metabolismului fosfocalcic. În același timp, unele prostaglandine și cAMP par să joace un rol biochimic direct asupra activității *1-α-hidroxilazei*.

Ca și în cazul biosintezei sale, concentrația 1,25(OH)₂D circulant este supusă unui control direct în vederea menținerii homeostaziei fosfocalcice.

Administrarea de vitamine D sau 25(OH)₂D în supradoză nu va conduce la o creștere prea mare a concentrației de 1,25(OH)₂D circulant, în timp ce administrarea intravenoasă de extract paratiroidian sau o dietă săracă în fosfor vor produce o creștere de până la 80% a concentrației 1,25(OH)₂D. Factorii ce reglează nivelul concentrației 1,25(OH)₂D în sânge sunt sintetizați în figura 2.3.

Deci, în principiu, concentrații crescute de 1,25(OH)₂D se întâlnesc atunci când există cerințe mai mari ale organismului în calciu și fosfor ce pot fi acute (hipocalcemie, hipofosfatemie) sau prelungite (sarcină, alăptare, creștere, primii doi ani de viață și în perioada pubertară, precum și în

tratamentul osteomalaciei și rahitismului), iar concentrații scăzute se observă în supradozarea calciului și/sau fosforului (Gascon-Barre, 1997).

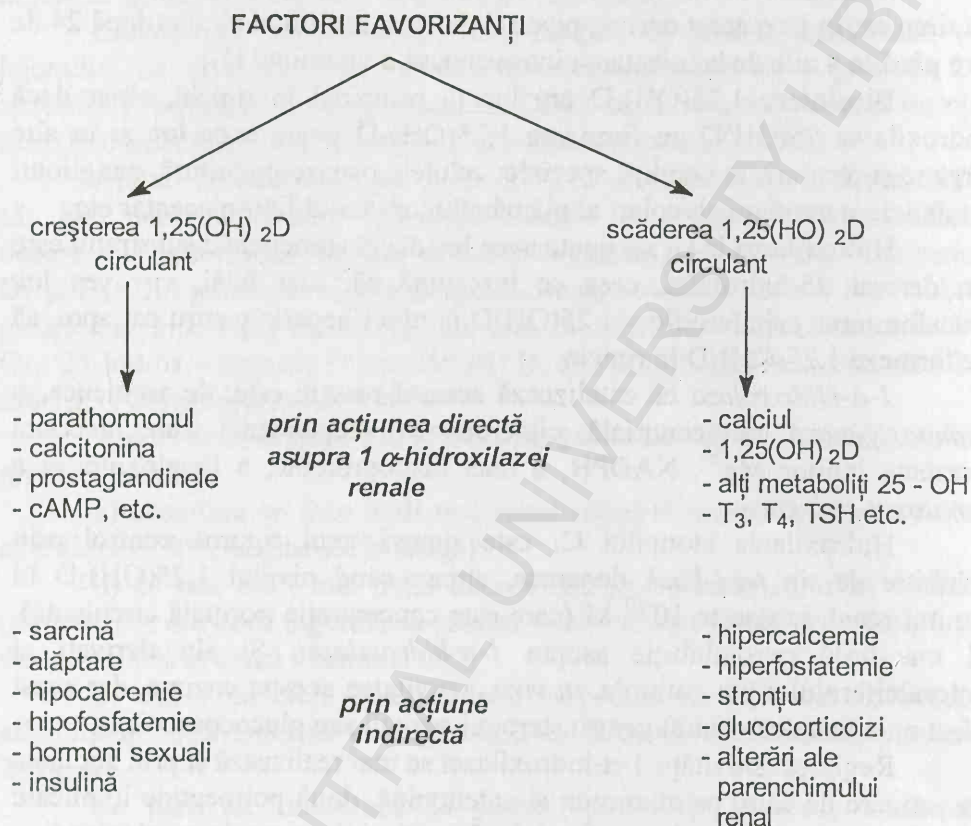


Figura 2.3. Principalii factori endogeni ce influențează concentrația 1,25 - dihidroxi - calciferolului în sânge (Fournier, 1985).

În organismul animal și uman se mai formează un derivat dihidroxilat – $24,25(\text{OH})_2\text{D}$ – dar tipul enzimei implicate în hidroxilare, localizarea și reglarea sa sunt încă discutabile.

2.2.4.3. Catabolismul și eliminarea calciferolilor și a derivaților lor

Căile de degradare și eliminare din organism a calciferolilor sunt extrem de complexe. Calciferolii sunt mai întâi transformați într-o serie de metaboliți ce prezintă încă activitate biologică, după care sunt degradați în continuare și eliminați.

Există mai multe căi de degradare ce au loc în mai multe organe: ficat, rinichi și alte organe pentru metabolizii calciferolului (fig. 2.4). Cele mai puțin cunoscute sunt căile de degradare ale derivaților 1,25-dihidroxilați. Se cunoaște că, în țesuturile țintă, 1,25(OH)₂D se inactivează prin clivarea catenei laterale. Produsul format – acidul calcitroic (24,25,26,27-tetra-ol-1- α -hidroxi-23-carboxi-calciferol) – se elimină prin bilă.

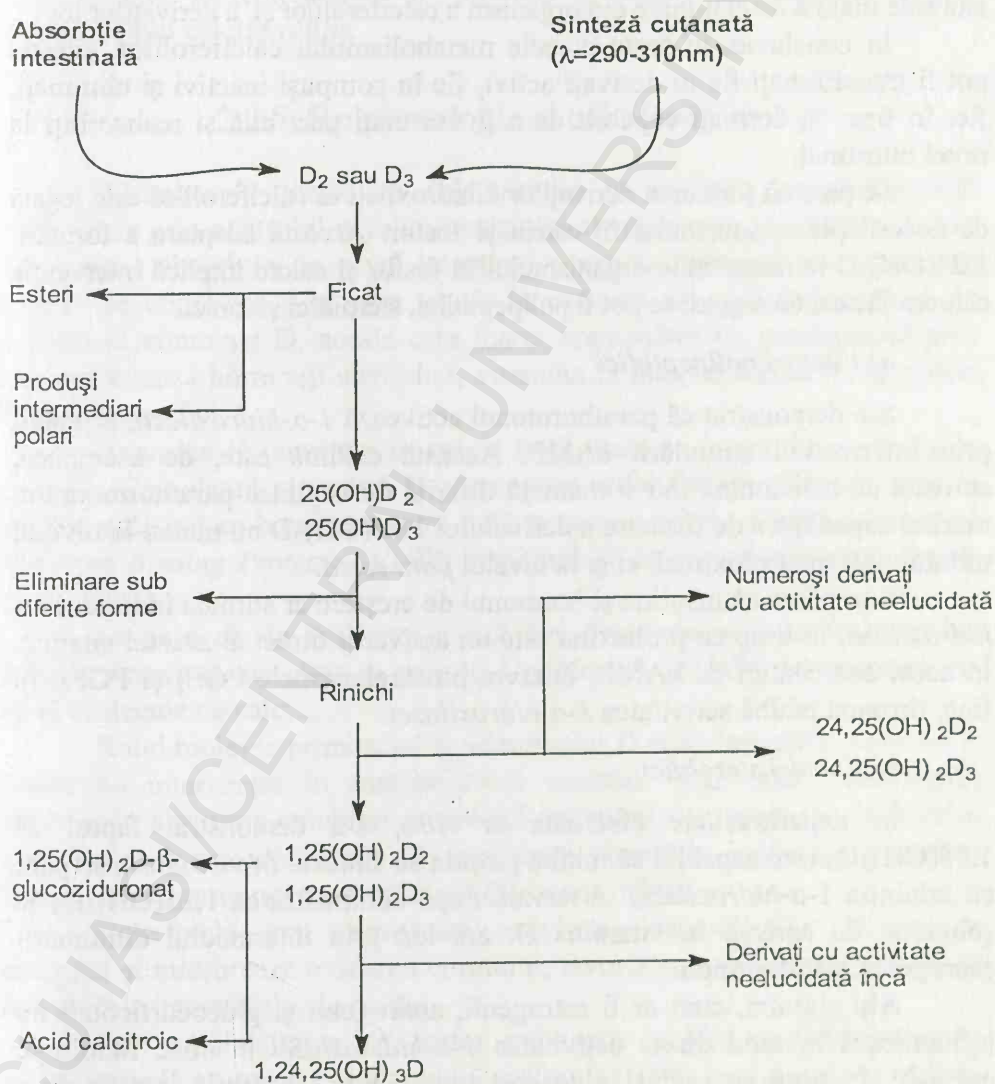


Figura 2.4. Principalele căi de degradare a vitaminei D (Fournier, 1985).

Bila reprezintă calea principală de eliminare a produșilor de degradare a $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, dar și a calciferolilor și a altor metaboliți.

După o săptămână de la administrarea intravenoasă a $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, o bună parte din doză (între 33 – 64%) se regăsește în fecale, atât sub formă liposolubilă, în special sub formă de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ netransformat, cât și sub formă hidrosolubilă, în special acid calcitroic și derivați glicoconjugați. Din aceste motive, se consideră că eliminarea prin fecale a calciferolilor este o altă cale majoră de eliminare din organism a calciferolilor și a derivaților lor.

În concluzie, în toate etapele metabolismului calciferolilor, aceștia pot fi transformați fie în derivați activi, fie în compuși inactivi și eliminați, fie, în fine, în derivați capabili de a fi excretați prin bilă și reabsorbiți la nivel intestinal.

Se pare că formarea derivaților dihidroxilați ai calciferolilor este legată de necesitățile organismului în calciu și fosfor. Această adaptare a formării $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ la necesitățile organismului în fosfor și calciu implică intervenția câtorva factori de reglare ce pot fi polipeptidici, steroidici și ionici.

a) Factori polipeptidici

S-a demonstrat că parathormonul activează *1- α -hidroxilaza*, probabil prin intermediul stimulării cAMP. Această enzimă este, de asemenea, activată de calcitonină într-o manieră diferită de acțiunea parathormonului, măbind capacitatea de formare a derivatului $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ nu numai la nivelul tubului deformat proximal, ci și la nivelul *pars recta*.

S-ar părea că insulina și hormonul de creștere ar stimula indirect *1- α -hidroxilaza*, în timp ce prolactina este un activator direct al acestei enzime. În acest caz, alături de cAMP, intervin prostaglandinele PGE_2 și PGF_2 . În fine, tiroxina inhibă activitatea *1- α -hidroxilazei*.

b) Factori steroidici

În experimentele efectuate *in vitro*, s-a demonstrat faptul că $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ este capabilă să inhibe propria sa sinteză. *In vivo*, însă, se pare că inhibiția *1- α -hidroxilazei* observată după administrarea $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ la șobolanii cu carență în vitamina D, are loc prin intermediul diminuării secreției de parathormon.

Alți steroizi, cum ar fi estrogenii, androgenii și glucocorticoizii nu influențează în mod direct activitatea *1- α -hidroxilazei* în doze fiziologice normale, în timp ce aceiași glucocorticoizi inhibă absorbția intestinală a calciului, iar carența în estrogeni este însoțită de o diminuare a sintezei $1,25(\text{OH})_2\text{D}$.

c) Factori ionici

În timp ce stimularea activității *1- α -hidroxilazei* în hipocalcemie are loc prin intermediul parathormonului, hipofosfătemia stimulează direct această enzimă. În afară de aceasta, s-a semnalat faptul că *1- α -hidroxilaza* poate fi inhibată de stronțiu, difosfați, etanol și în acidozele metabolice.

În afară de factorii menționați mai sus, s-ar părea că administrarea de medicamente anticonvulsive ar provoca anomalii ale metabolismului intermediar al calciferolilor.

2.2.5. Rolul biologic al calciferolilor

Vitamina D joacă un rol esențial în reglarea metabolismului fosfocalcic prin controlul nivelului calciului sanguin care se realizează prin favorizarea absorbției la nivel intestinal a acestui mineral și diminuarea vitezei de eliminare a sa prin urină. În ceea ce privește mecanismul de acțiune al vitaminei D, acesta este foarte asemănător cu mecanismul prin care acționează hormonii steroidici, vitamina D interacționând cu receptori nucleari specifici.

Vitamina D pătrunde în celula țintă unde se leagă de un receptor specific. Complexul **vitamină D – receptor** astfel format pătrunde apoi în nucleu unde induce biosinteza unui ARNm care codifică proteina calcipexică (*Calcium Binding Protein – CaBP*) responsabilă de efectul biologic (Azuma et al., 1982).

Se pare că, în realitate, există trei tipuri de proteine calcipexice diferite, fiecare cu structura sa proprie. O moleculă de CaBP poate transporta două molecule de calciu.

Rolul biologic primordial al vitaminelor D și al derivaților acestora îl constituie intervenția în metabolismul mineral. Mai exact, calciferolii intervin în absorbția calciului la nivelul intestinului subțire, iar, la nivelul intestinului gros, vitaminele D facilitează absorbția calciului alimentar împreună cu hormonul paratiroidian (Cojocaru, 1986).

Calciferolii mai stimulează activitatea osteoblaștilor în fixarea calciului și micșorează oxidarea citratului, favorizând concentrarea acestuia în lichidele interstițiale ale osului.

Prin administrarea de fosfor radioactiv a fost studiată influența vitaminelor D asupra metabolismului fosforului. Din acest punct de vedere, efectul cel mai pronunțat a fost pus în evidență în oase unde s-a observat că vitaminele D au rol în procesul de osificare prin convertirea fosforului

organic în fosfor anorganic prin mobilizarea lui din țesuturi și favorizarea formării complexului fosfocalcic. La nivel intestinal, vitaminele D influențează absorbția fosforului în strânsă interdependență cu absorbția calciului.

Calciferolii activează *fosfataza alcalină* în ficat, rinichi, mucoasa intestinală și din zonele de creștere ale oaselor precum și *ATP-aza*, în special cea eritocitară, fapt ce explică efectul vitaminelor D asupra sistemului osos, rinichilor și intestinului.

În fine, calciferolii reglează desfășurarea ciclului acizilor tricarboxilici prin inhibarea *aconitazei*, fapt care conduce la acumularea de citrat în țesuturile în care acționează vitaminele D. Indirect, este deci reglată și generarea de ATP la nivel tisular deoarece ciclul Krebs este principalul furnizor de ATP.

Stimularea absorbției intestinale a calciului și fosforului sub acțiunea calciferolilor este cunoscută de mult timp. Se mai cunoaște, de asemenea, că metabolitul cel mai activ din acest punct de vedere este $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Acest metabolit accelerează fluxul ionilor de calciu și fosfat din lumenul intestinal fără să influențeze fluxul invers. El stimulează absorbția calciului, mai ales la nivelul duodenului, apoi la nivelul colonului, jejunului și ileonului.

Stimularea absorbției calciului și fosforului începe după 6 – 8 ore de la administrarea intravenoasă a $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ dar atinge maximul abia după 24 – 48 de ore, fapt ce denotă un mecanism extrem de complex al acestui fenomen, mecanism ce a fost clarificat relativ recent.

Derivatul dihidroxilat al vitaminei D_3 se fixează la nivelul unui receptor specific din citosol. Complexul format cu acest receptor se integrează, apoi, în cromatina nucleară unde modulează transcripția unui ARNm specific. Acesta, la rândul lui, induce biosinteza anumitor proteine, în speță a așa numitei „proteine calcipexice” (*calcium binding protein*–CaBP) care este de fapt, factorul principal ce stimulează transportul calciului prin peretele intestinal.

Această schemă simplificată nu ține cont, însă, de rolul posibil al $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ asupra proteinelor preexistente cu rol în transportul calciului și fosforului. Ea explică doar lipsa sincronizării între apariția tardivă a CaBP și accelerarea transportului de calciu.

Acțiunea $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ mai constă în creșterea permeabilității la nivelul marginii în perie față de calciu, deoarece acest derivat poate modifica structura fosfolipidică printr-un mecanism care nu reclamă sinteza proteică *de novo*, ci care constă în formarea unei structuri specifice. Acesta mai intervine, prin intermediul CaBP și în transportul transcelular al

calciului, reglând concentrația sa în citosol și mitocondrii. S-a demonstrat că $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ nu intervine la nivelul membranei bazale unde transportul calciului este asigurat prin mecanismul pompei de sodiu.

Rezultatul stimulării absorbției intestinale a calciului sub acțiunea derivaților dihidroxilați ai calciferolilor îl constituie creșterea absorbției diferențiate a acestuia. Acest lucru explică de ce $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ nu acționează atunci când aportul de calciu *per os* depășește 1,5g/zi. La asemenea concentrații, absorbția calciului are loc prin difuziune pasivă, iar echilibrul calcic se poate realiza fără intervenția $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.

Mecanismul acțiunii derivaților calciferolilor în absorbția fosforului este mai puțin studiat. S-ar părea că un rol determinant în acest sens îl are creșterea activității *fosfatazei alcaline*. Acțiunea la nivel intestinal a acestor metaboliți ai calciferolilor este foarte puțin probabilă.

Deși activitatea antirahitică a calciferolilor este clară, mecanismele care stau la baza acestui efect nu sunt încă elucidate complet, punându-se, printre altele, problema dacă rolul vitaminelor D și a derivaților lor se manifestă exclusiv sau nu la acest nivel.

Efectul calciferolilor la nivel osos pare a fi un efect secundar prin creșterea concentrației calciului și fosforului în mediul extracelular și prin acțiunea la nivel intestinal (eventual și renal).

Acțiunea directă asupra sistemului osos, cunoscută de mult timp, constă, în mod paradoxal, în creșterea gradului de resorbție ce are drept consecință eliberarea ionilor de calciu și fosfor. Această resorbție este, în principal, osteoclastică și mai puțin osteocitară. Ea poate avea loc chiar și în absența parathormonului, dar se acumulează la efectul acestuia. Acest efect joacă un rol important în corectarea hipocalcemiei de etiologie hipoparatiroidiană în perioada de pubertate.

Calciferolii mai acționează și asupra cartilajelor. La nivelul condrocitelor, există receptori comuni pentru $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ și $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Acești doi metaboliți sunt capabili să stimuleze încorporarea sulfului în proteoglicani.

Secreția de parathormon este controlată, în principal, de nivelul calciului ionic. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ inhibă indirect secreția paratiroidiană prin creșterea nivelului calciului ionic. În afară de aceasta, au fost identificați receptori paratiroidieni specifici pentru $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ și $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, dar studii privind efectul acestor derivați asupra secreției celulelor paratiroidiene cultivate *in vitro* au dat rezultate contradictorii.

În timpul sarcinii și alăptării, la nivelul glandei mamare, calciferolul accelerează biosinteza CaBP. Acest fenomen explică rolul vitaminei D în

reglarea acumulării calciului în lapte. La nivel placentar, calciferolul reglează transportul calciului (sub forma complexului cu proteina calcipexică) contribuind, în felul acesta, la mineralizarea scheletului fetal. În mușchi, vitamina D reglează concentrația ionilor de calciu necesari realizării, în condiții optime, a concentrației musculare. Din această cauză, țesutul muscular îndeplinește și rolul de rezervă de calciu în caz de hipocalcemie (Racadot, 1990; 1993).

Se pare că vitamina D este implicată și în alte procese biochimice și fiziologice în diferite organe și țesuturi care nu sunt direct implicate în metabolismul fosfocalcic. De exemplu, s-a demonstrat faptul că celulele β ale insulelor Langerhans, celule responsabile de biosinteza insulinei, conțin cantități crescute de proteină calcipexică. Mai mult de atât, carența vitaminică D determină și o diminuare a vitezei de biosinteză a insulinei.

Vitamina D este, de asemenea, implicată în procesul hematopoiezei. În măduva osoasă, calciferolul induce formarea macrofagilor și inhibă proliferarea limfocitelor B și T active, precum și biosinteza imunoglobulinelor. În același timp, calciferolul stimulează agregarea plachetară. La nivelul pielii, 1,25-dihidroxi-vitamina D exercită un efect asupra creșterii și diferențierii celulare (Munger et al., 2006).

În ceea ce privește integritatea sistemului nervos, au fost identificați receptori ai 1,25-dihidroxi-calciferolului în diferite zone ale creierului, însă rolul acestora nu este deocamdată complet elucidat. În același timp, receptorii specifici pentru 1,25-(OH)₂ D au fost identificați și în diferite tipuri de tumori maligne.

2.2.6. Unități de activitate vitaminică. Necesități nutriționale

O unitate internațională de vitamină D (U.I.) este definită ca fiind cantitatea de vitamină care are o activitate biologică echivalentă cu 0,025 μ g calciferol.

Alimentele naturale nu conțin decât cantități foarte mici de vitamină D cu excepția unor pești (somon, hering, sardele, morun etc. care conțin 20 – 60 μ g D₃/100 g). De aceea, sursa principală o constituie calciferolul endogen sintetizat la nivel cutanat.

Producția zilnică de 1,25(OH)₂D se situează între 0,3 – 1,0 mg, fiind, însă, mai mare la persoanele la care regimul alimentar este sărac în calciu și/sau fosfor, la pubertate și la femei în ultimele luni de sarcină. Aportul de calciferol endogen poate fi insuficient dacă expunerea la raze UV este

inadecvată calitativ și cantitativ (poluare atmosferică, traiul în munți, vestimentație și locuință inadecvate etc.).

În aceste situații, precum și în țările în care îmbogățirea alimentelor în calciferoli este interzisă, riscul carențelor în vitamină D nu este deloc neglijabil. Astfel, aportul suplimentar (profilactic) pentru nou-născuți se consideră a fi de 20 – 30 $\mu\text{g}/\text{zi}$ în primii doi ani de viață, iar, în timpul iernii, până la de 2 – 3 ori mai mare. Pentru femeile aflate în ultimele luni de sarcină se consideră, de asemenea, normal un aport suplimentar de calciferol exogen de 10 – 20 $\mu\text{g}/\text{zi}$ (Vieth, 1999).

Expunerea zilnică la soare poate asigura aproximativ 80 – 90% din necesarul de vitamină D pentru organismul uman, iar băile de soare ale corpului nud asigură până la 10 000 U.I. (Cu specificarea obligatorie ca aceasta să se facă dimineața, când predomină razele ultraviolete!). Indivizii cu pielea foarte pigmentată, au nevoie de o expunere la soare mai prelungită decât cei cu tenul foarte alb deoarece la primii, conversia provitaminei D în vitamină activă la nivel cutanat este mai slabă.

În perioada de toamnă – iarnă, rezervele de vitamină D din organismul uman diminuează drastic, fiind mult inferioare celor din perioada estivală care depind, însă, și de alți factori (antecedente medicale, vârstă, talie, starea de sănătate, zona geografică în care persoana respectivă își are reședința etc.). La cele de mai sus trebuie adăugat însă, în mod obligatoriu, că dorința de a ne asigura sursa endogenă de vitamină D nu trebuie să ne determine să exagerăm în ceea ce privește expunerea la soare, îndeosebi între orele 11 – 17, iar persoanele care, prin natura activității depuse, petrec mult timp în soare, trebuie să-și asigure măsuri serioase de protecție pentru evitarea efectelor dăunătoare.

2.2.7. Tulburări de aport vitaminic

În general, se consideră că apariția simptomelor de carență vitaminică D, ce poate avea o etiologie extrem de diversă, poate fi cauzată de următorii factori:

a) Biosinteza cutanată deficitară:

- expunere insuficientă la soare;
- poluare atmosferică.

b) Aport deficitar de calciferol exogen:

- nesuplimentarea cu vitamină D a hranei subiecților din categoria de risc;

– regim alimentar particular ce scade absorbția intestinală a calciferolilor (regim sărac în grăsimi);

– malabsorbție intestinală;

– obstrucția și atrezia căilor biliare.

c) Catabolism accelerat al calciferolilor:

– tratament anticonvulsiv.

d) Creșterea necesarului de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$:

– efort;

– sarcină și regimuri alimentare sărace în calciu și fosfor sau regimuri ce diminuează absorbția acestor ioni.

e) Pierderi crescute:

– malabsorbție intestinală;

– sindrom nefrotic;

– dializă peritoneală cronică.

În cazul vitaminelor D, tulburările de aport vitaminic pot conduce la simptome de hipovitaminoză sau hipervitaminoză.

a) Hipovitaminoza D

Ca urmare a acțiunii unora dintre factorii enumerați mai sus, apare hipovitaminoza care, într-o carență accentuată, produce rahitismul la copii și, respectiv, osteomalacia la adulți.

Rahitismul

Cercetările efectuate pe animale de experiență au demonstrat faptul că, pentru inducerea rahitismului experimental, în afară de deficitul de vitamină D în organism, indiferent de natura lui (endogenă sau exogenă), se impune existența unui regim alimentar în care raportul P/Ca să difere mult de 1,5.

Rahitismul apare atunci când carența vitaminică se manifestă în copilărie, când organismul este în creștere, băieții fiind mai predispuși acestei maladii decât fetele. Boala este mai frecventă la copiii supuși unor condiții necorespunzătoare de viață, iar, în mediul urban, incidența este mult mai mare decât în mediul rural.

Rahitismul poate fi datorat și unor cauze secundare, chiar dacă aportul vitaminic și raportul P/Ca sunt optime. Acest tip de rahitism se întâlnește, de exemplu, atunci când absorbția la nivel intestinal este dezechilibrată (cum se întâmplă în steatoree, boli pancreatice, diferite boli hepatice etc.) sau în unele afecțiuni renale când activitatea *1- α -hidroxilază* este absentă. În acest din urmă caz, 25-hidroxicalciferolul nu se mai transformă în derivatul său dihidroxilat cu rol în absorbția intestinală a calciului.

Evident că, în aceste cazuri, doar administrarea de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ este eficientă. Rahitismul constă într-o perturbare a mineralizării oaselor aflate în curs de creștere, perturbare ce provoacă leziuni osoase prin trei procese diferite:

- demineralizare;
- scăderea absorbției intestinale a calciului;
- scăderea absorbției fosfaților ca urmare a formării fosfaților de calciu insolubili.

În acest din urmă caz, produsul $[\text{Ca}^{2+}][\text{PO}_4^{2-}]$ al plasmii scade, iar mineralizarea osului este perturbată. Dacă hipocalcemia induce un răspuns al paratiroidelor, se instalează o formă severă a rahitismului deoarece acțiunea parathormonului tinde să aducă la nivel normal calcemia, fapt ce accentuează demineralizarea osului. Concomitent, se observă și hiperfosfatemie, fapt ce conduce la alterarea raportului Ca/P .

Datorită lipsei sărurilor de calciu, osul nou format este alcătuit exclusiv din matricea organică, iar osul vechi, format înainte de apariția rahitismului, se subțiază datorită decalcifierii, înlăturându-se, în felul acesta, în mod progresiv, osul calcifiat. Modificări mai importante apar la oasele lungi, la joncțiunea dintre diafiză și cartilaj.

În afara carenței vitaminice și a alterării absorbției intestinale, în apariția rahitismului la noul născut mai intervin și condițiile schimbului de calciu dintre mamă și făt în perioada prenatală și aportul insuficient al calciului și fosforului prin laptele matern în perioada neonatală. La sugar, alimentația artificială este rahitogenă prin excesul de lapte de vacă și orarul neregulat al alăptărilor.

Digestia defectuoasă a laptelui de vacă îngreunează absorbția calciului ce conduce la un dezechilibru fosfocalcic, crescând necesitățile în vitamină D. La copiii înțărcați, regimul alimentar este predominant glucidic, pâinea fiind, de cele mai multe ori, în exces. Cum făinoasele prezintă un raport Ca/P de aproximativ 0,15, riscul de îmbolnăvire este extrem de crescut, mai ales dacă se asociază cu expunerea insuficientă la soare.

Copiii cu rahitism prezintă unele simptome clinice caracteristice printre care cele mai importante sunt: întârzierea creșterii, dureri osoase, evitarea poziției șezând, musculatură hipotonă, iar, în formele mai grave, se semnalează anomalii scheletice. Acestea se referă, în primul rând, la unele aspecte cum ar fi: picioare curbe, deformarea craniului, închiderea tardivă a fontanelor și erupție dentară întârziată (uneori ea nu este terminată nici după trei ani). Toracele este deformat prin ieșirea în relief a sternului și îndepărtarea coastelor inferioare.

Datorită scăderii pronunțate a tonusului muscular, abdomenul poate fi destins („abdomen de batracian”). Datorită hipocalcemiei, copiii rahitici pot face tetanie manifestă sau lentă, uneori cu spasm carpo-pedal (când începe să ștepe fără vreo cauză evidentă, copilul capătă brusc un spasm al glotei, își ține respirația, se cianoează, după care inspiră cu un oftat prelung). Aceste simptome se accentuează la copiii rahitici care suferă și de spasmofilie. Simptomele de spasmofilie apar frecvent și în cazul aplicării unui tratament defectuos al rahitismului, când raportul Ca/P este foarte scăzut.

S-a constatat că, în rahitism, asimilarea fierului este mult diminuată din care cauză, starea de rahitism este însoțită uneori de anemie. Tratamentul curativ al rahitismului se instituie, în general, în raport de gravitatea bolii. Unii autori consideră că administrarea a 250 U.I./zi este suficientă pentru prevenirea rahitismului la sugari. În perioada copilăriei și adolescenței, se administrează până la 400 U.I./zi, de regulă în laptele care formează alimentația de bază a acestora.

La prematuri, necesarul zilnic de vitamină D este evaluat la 1000 U.I. Când boala s-a instalat, dozele sunt mult mai mari, doza zilnică ajungând la 1200 U.I./zi.

Dacă simptomele și analizele indică un rahitism sever, se administrează 2500 – 5000 U.I./zi timp de 40 – 50 de zile. Unii autori au administrat doze unice de 600 000 U.I./zi, uneori chiar și de 1 200 000 sau 1 800 000 în două-trei reprize, atât în scop profilactic, cât și curativ. Există, însă, forme de rahitism rezistent la vitamina D.

Este vorba, în primul rând, de o maladie congenitală numită „rahitism vitamino-D-rezistent, primitiv hipofosforic”. El este cauzat de o insuficiență a absorbției calciului la nivel intestinal. În acest caz simptomele, care sunt asemănătoare cu cele din rahitism, apar mult mai târziu, după doi-trei ani, uneori chiar la pubertate.

În fine, apariția de stări rahitice se mai observă în unele stări patologice hepatice și renale care diminuează activitatea hidroxilazelor specifice, calciferolii neputând fi transformați în metaboliții lor activi dihidroxilați.

Osteomalacia. Când carența în vitamină D, calciu și fosfor, survine la adulți apare maladia numită osteomalacie care se manifestă, ca și rahitismul, prin decalcifierea defectuoasă a țesutului osos. Aceasta este o boală de origine dietetică, cu incidență mai mare la femei, care se manifestă prin dureri ale membrelor inferioare, deformări ale coloanei și oaselor pelviene.

Fracturile oaselor se produc mai frecvent la bătrâni și mai rar la tineri, cu incidență mai mare la femei decât la bărbați. Maladia poate să apară și în cazul unei absorbții intestinale defectuoase sau în insuficiență renală. De asemenea, tulburări digestive ale absorbției grăsimilor duc la formarea sărurilor de calciu insolubile, care sunt eliminate o dată cu vitamina D prin fecale, ceea ce caracterizează maladia denumită *steatoree cronică*.

Osteomalacia poate să mai apară și în bolile pancreatice, în anumite leziuni ale intestinului subțire, în caz de rezecție intestinală, în icterul obstructiv (mecanic) și fistula biliară. Cauzele secundare care favorizează osteomalacia sau intensifică simptomatologia ei sunt graviditatea, lactația și inaniția.

Simptomatologia osteomalaciei se caracterizează prin dureri ale membrelor inferioare și în partea inferioară a toracelui. Palparea șoldurilor, coastelor și coapselor provoacă dureri osoase. În serul bolnavilor de osteomalacie, fosforul este mult scăzut (de la 5 mg la 1–2 mg%), iar calciul are valori normale sau ușor scăzute.

b) Hipervitaminaza D

Multe date experimentale atestă faptul că, în urma tratamentului cu supradoze de vitamină D, apar o serie de intoxicații, uneori letale, cauzate de instalarea stării de hipervitaminoză D. S-a constatat că incidența este mai mare în cazul utilizării preparatelor vitaminice sintetice, oricât ar fi de pure.

Hipervitaminaza D se manifestă prin tulburarea severă a creșterii la copii, cefalee, sensibilitate acută a scalpului etc. Creșterea concentrației calciului seric poate induce o calcifiere a țesuturilor moi (corne, vase sanguine, rinichi etc.). Apar tulburări gastrice, oboseală, dezorientare, poliurie, anorexie, senzația de greață și vomă, pierderea în greutate etc.

Datorită instalării hipercalcemiei, apar leziuni renale prin nefrocalcinoză care conduce la insuficiență renală, precum și blocarea secreției hormonului paratiroidian.

Hipervitaminaza acută poate fi letală, moartea survenind datorită uremiei sau prin hemoragie subarahnoidiană și tulburări cardiovasculare. Unii autori consideră că hipervitaminaza D poate fi unul din factorii care provoacă leziuni endoteliale coronariene în declanșarea aterogenezei din cardiopatia ischemică.

Administrarea de doze mari (100 000 U.I./zi) în timpul sarcinii poate provoca avortul sau poate induce anomalii severe ale fătului.

2.2.8. Grupe de risc

Frecvența apariției simptomelor avitaminozei D este mult mai mare la o serie de categorii ale populației ce aparțin așa-numitelor grupe de risc:

– vegetarienii exagerați la care aportul de vitamină D exogenă este aproape nul;

- copiii până la vârsta de doi ani;
- alcoolicii cronici;
- persoanele de vârstă a treia;
- bolnavii cu diferite afecțiuni digestive;
- bolnavii renali supuși dializei;
- indivizii seropozitivi și bolnavii de SIDA;
- persoanele cu diferite afecțiuni ereditare:
 - rahitism pseudo-carențial de tip I, boală genetică autosomală recesivă rară caracterizată printr-o activitate mult scăzută a *1- α -hidroxilazei* renale care determină o diminuare mai mult sau mai puțin accentuată a nivelului de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$;
 - rahitism pseudo-carențial de tip II, maladie genetică autosomală rară cu transmitere recesivă caracterizată prin „rezistență” față de acțiunea $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ datorită absenței receptorilor celulari specifici;
 - rahitism hipofosfatemic familial;
 - pseudohipoparatiroidism.

2.2.9. Sinergie

Vitamina D prezintă o acțiune sinergică cu calciul ionic din alimente sau consumat ca supliment alimentar: aportul scăzut de calciu determină apariția simptomelor de avitaminoză, în timp ce un aport prea crescut al acestui ion favorizează hipervitaminoza.

2.2.10. Interferențe medicamentoase

La aplicarea tratamentelor cu preparate vitaminice D, se au în vedere interferențele pe care toate formele vitaminei D și derivații acestora le au cu medicamentele anticonvulsive de tipul barbituricelor și hidantoinelor, cu rifampicina, preparatele antiepileptice și preparatele anticoncepționale orale (Gascon-Barre, 1977).

2.2.11. Antivitamine D

În marea lor majoritate, antivitaminele D sunt substanțe total diferite structural de calciferoli. Astfel, acidul fitic care se găsește în cereale are acțiune rahitogenă chiar dacă nu există carență în vitamina D.

S-a mai observat că spanacul prezintă, de asemenea, acțiune rahitogenă, ulterior demonstrându-se faptul că printre antivitaminele D se numără și carotenoizii. De altfel, hipervitaminoza A determină fragilitatea oaselor. Cortizonul este considerat o antivitamină D, în timp ce acetatul de cortizon are o acțiune similară hipervitaminozei D.

Efect rahitogen se mai observă și în inhibiția biosintezei proteice de către actinomicină, puromicină și mitramicină. Acțiune antivitaminică D mai prezintă rezerpina, fenobarbitalul, EDTA-ul, vitaminele B₁, B₂ și E, precum și hidroxidul de aluminiu sau uleiul de parafină folosiți ca pansament gastric prin faptul că diminuează absorbția vitaminelor D la nivelul tubului digestiv.

Datorită pericolului apariției hipervitaminozei, precum și datorită complexității activității biologice a vitaminei D, care depășesc cadrul strict al metabolismului fosfo-calcic, administrarea calciferolilor în tratamentul rahitismului și osteomalaciei, dar mai ales în scop profilactic se face după o temeinică explorare biochimică și funcțională. Aceste explorări implică, în primul rând, determinarea calciului sanguin, studiul etiologic al hipo- și hipercalcemiei și coroborarea acestora cu explorarea endocrinologică. Se mai cunoaște faptul că hipocalcemia poate fi de etiologie extraparatiroidiană, paratiroidiană și pseudoparatiroidiană.

a) Hipocalcemia extraparatiroidiană

Aceasta poate fi cauzată de diminuarea fluxului calcic în lichidul extracelular, scăderea reabsorbției calciului la nivel tubular, insuficiența renală și cronică etc.

La rândul ei, scăderea fluxului de calciu în lichidul extracelular poate fi cauzată de carențe nutriționale, expunere insuficientă la acțiunea razelor UV și malabsorbția intestinală a substanțelor osoase, deficiențe ale metabolismului vitaminelor D prin deficit de *25-hidroxilază* hepatică, inducție hepatică a biosintezei enzimelor ce degradează 25(OH)D, deficit de *1- α -hidroxilază* renală (rahitism vitamino-rezistent de tip I), rezistență la acțiunea 1,25-dihidroxicalciferolului (rahitism vitamino-rezistent de tip II) etc.

Insuficiența renală cronică produce hipocalcemie printr-un mecanism complex, la care participă mai mulți factori. Este vorba de diminuarea activității *1- α -hidroxilazei* concomitent cu diminuarea masei nefrotice, rezistența osoasă față de acțiunea parathormonului, scăderea reabsorbției

calciului la nivel tubular, acumularea de fosfați și alți anioni ce pot complexa calciul etc.

Hipocalcemie, însoțită de hipocalciurie, poate să apară și în faza de vindecare a osteopatiilor metabolice, după intervenții chirurgicale, în hiperparatiroidii primitive. În acest caz, hipocalcemia mai este însoțită și de o creștere netă a osteocalcinei.

b) Hipocalcemia paratiroidiană

În hipoparatiroidie, calcemia este, în general, foarte scăzută (sub 2 mM) și asociată cu o creștere a fosfatemiei, parathormon diminuat sau inadaplat la hipocalcemie, cAMP nefrogenic scăzut, hipocalciurie etc. Hipoparatiroidia este întâlnită, mai ales, după unele intervenții chirurgicale (de exemplu tiroidectomii), dar poate fi și secundară (boala Wilson, hemocromatoză etc.). În acest din urmă caz, diagnosticul poate fi confirmat de un test cu parathormon exogen care indică o creștere a cAMP nefrogenic (Roy, 1995).

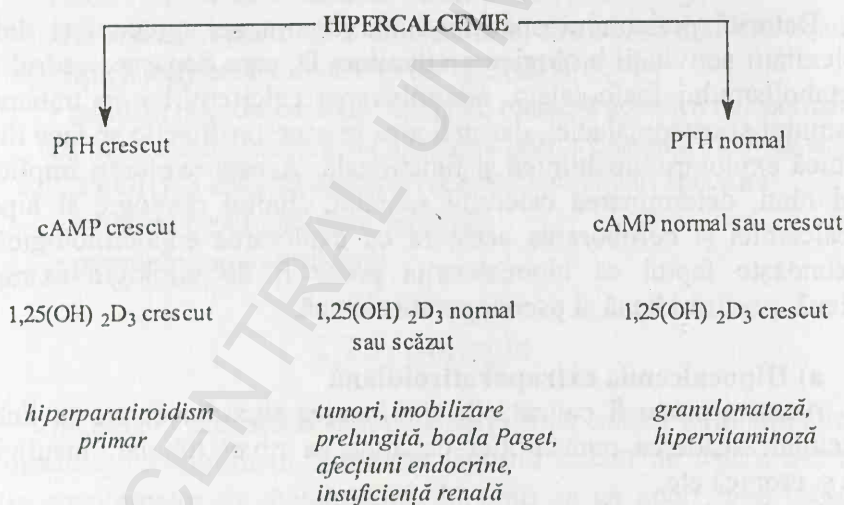


Figura 2.5. Strategia explorării funcționale a hipercalcemiei cronice (Nussey and Whitehead, 2001).

c) Hipocalcemia pseudoparatiroidiană

Pseudoparatiroidia de tip I se caracterizează printr-o rezistență a organelor țintă la acțiunea parathormonului. În 50% din cazuri, aceasta este o afecțiune congenitală și constă în absența cuplării receptorului cu *adenilat-ciclaza* membranară. Se observă, în acest caz, o creștere a secreției de parathormon, diminuarea cAMP nefrogenic și absența hiperfosfaturiei la testul cu parathormon exogen.

Pseudoparatiroidia de tip II se caracterizează prin rezistență la parathormon la nivel periferic. S-a mai descris o hipoparatiroidie pseudoidiopatică definită prin biosinteza de parathormon inactiv față de organele sensibile la administrarea hormonului exogen.

La rândul lor, hipercalcemiile pot fi datorate fie hiperparatiroidiei, fie că sunt asociate cu afecțiuni maligne. Alte etiologii sunt mult mai rare (granulomatoză, boala Paget, imobilizare prelungită, tirotoxicoză, unele afecțiuni endocrine). Strategia explorării funcționale a hipercalcemiei cronice se poate prezenta schematic ca în figura 2.5. Explorarea hipocalcemiei cronice este mult mai complexă și necesită un număr sporit de teste (fig. 2.6).

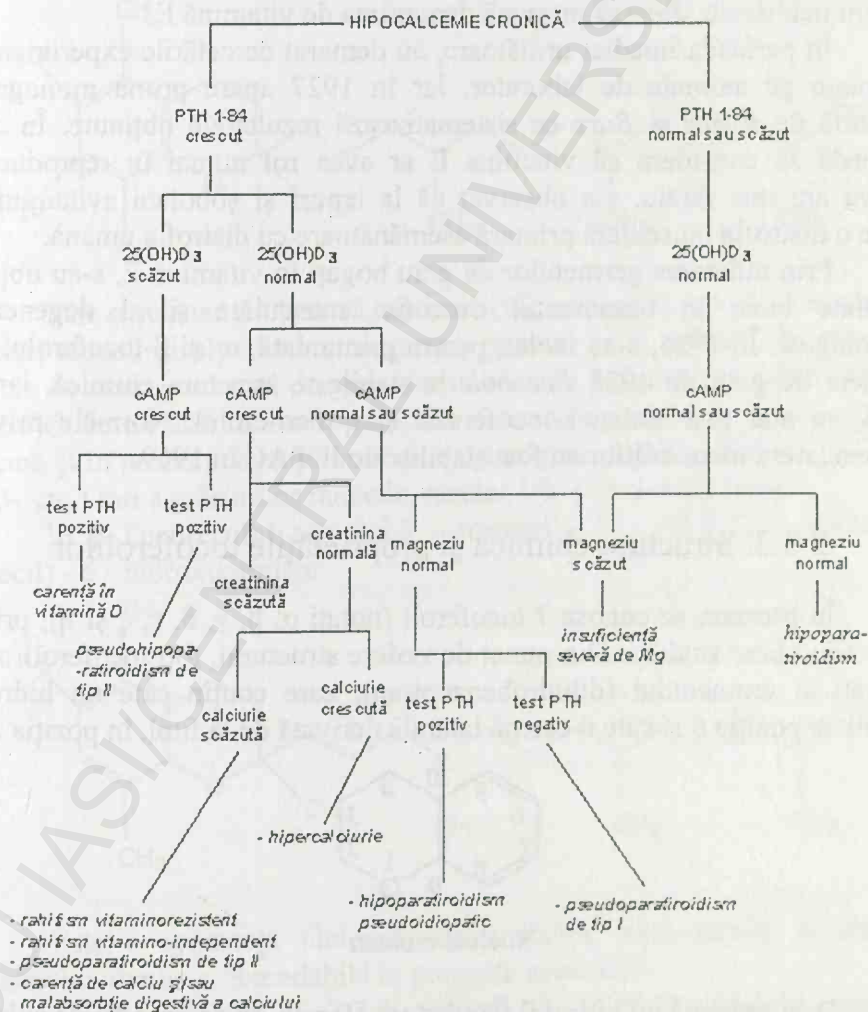


Figura 2.6. Explorarea funcțională a hipocalcemiei cronice (Nussey and Whitehead, 2001).

2.3. Vitamina E (tocoferolii, vitamina antisterilității, vitamina fertilității, vitamina reproducerii)

2.3.1. Generalități

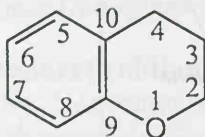
Tocoferolii (gr. *τοκος* – *progenitură*, *φερειν* – *a naște*) sunt substanțe liposolubile destul de răspândite, mai ales în regnul vegetal. Existența acestui factor liposolubil important pentru organismele animale a fost presupusă, pentru prima dată, în 1922 de către *Evans* și *Bishop*, pentru ca, doi ani mai târziu, *Sure* să propună denumirea de vitamină E.

În perioada imediat următoare, au demarat cercetările experimentale efectuate pe animale de laborator, iar în 1927 apare prima monografie alcătuită de *Evans* și *Burr* ce sistematizează rezultatele obținute. În aceea perioadă se considera că vitamina E ar avea rol numai în reproducere. Câțiva ani mai târziu, s-a observat că la iepuri și șobolani avitaminizați apare o distrofie musculară primară asemănătoare cu distrofia umană.

Prin utilizarea germenilor de grâu bogați în vitamină E, s-au obținut rezultate bune în tratamentul distrofiei musculare și al degenerării neurologice. În 1936, s-au izolat, pentru prima dată, α - și β -tocoferolul din germeni de grâu, în 1938 *Fernholz* le stabilește structura chimică, iar, în 1956, au mai fost izolați ϵ -tocoferolul și η -tocoferolul. Normele privind nomenclatura tocoferolilor au fost stabilite de IUPAC în 1969.

2.3.2. Structura chimică și proprietățile tocoferolilor

În prezent, se cunosc 7 tocoferoli (notați α , β , γ , δ , ϵ , ζ și η), primii patru fiind bine studiați. Din punct de vedere structural, toți tocoferolii sunt derivați ai cromanului (dihidrobenezopiran), care conțin câte un hidroxil fenolic în poziția 6 și câte o catenă laterală derivată de la fitol, în poziția 2:



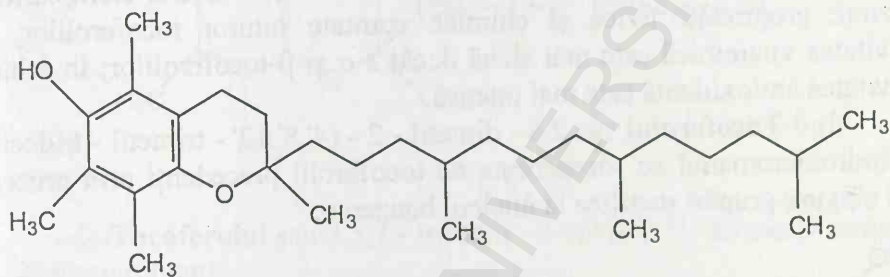
Nucleul croman

Deși prezintă un hidroxil fenolic, tocoferolii nu dau reacții de culoare cu clorura ferică și nu au caracter slab acid. Celelalte proprietăți ale tocofero-

lilor, printre care stabilitatea crescută a esterilor acestora, sunt comune cu ale fenolilor.

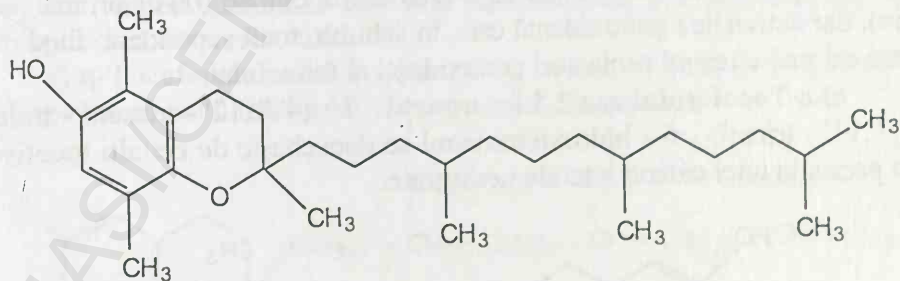
Activitatea vitaminică a tocoferolilor este imprimată de prezența nucleului cromatic și a grupării fenolice libere sau esterificate, iar numărul grupelor metilice de la inelul benzenic al cromanului influențează, de asemenea, acțiunea vitaminică a acestora. Până în prezent, au fost studiați următorii tocoferoli sub aspectul structurii lor chimice:

a) **α -Tocoferolul** sau 2,5,7,8 - tetrametil - 2 - (4',8',12' - trimetil - tridecil) - 6 - hidroxicroman:



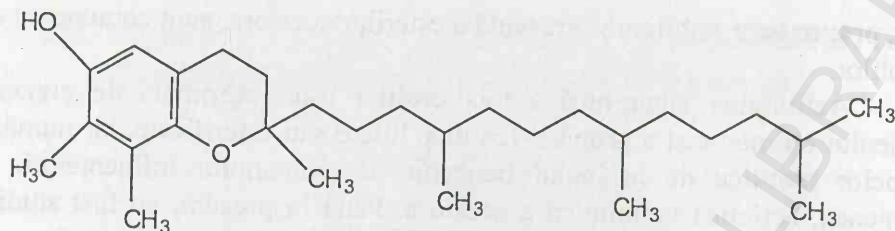
Este o substanță uleioasă, optic activă, insolubilă în apă, dar solubilă în eter, alcooli și alți derivați organici, precum și în grăsimi. În procesul culinar se distruge destul de greu, iar în absența oxigenului rezistă chiar și la 250°C. Este stabil în mediu acid, dar extrem de instabil în mediu alcalin, precum și în prezența agenților oxidanți (halogeni, AgNO_3 , KMnO_4 , KClO_4 , H_2O_2 etc.) sau a grăsimilor râncede, razelor UV și a clorurii ferice.

b) **β -Tocoferolul** sau 2,5,8 - trimetil - 2 - (4',8',12' - trimetil - tridecil) - 6 - hidroxicroman:



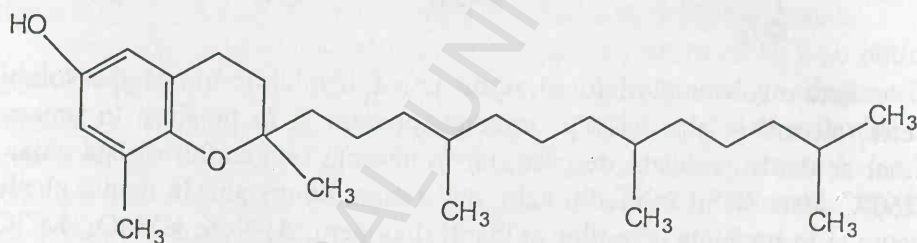
Este o substanță uleioasă, optic activă, termostabilă în absența oxigenului, dar ușor degradabilă în prezența acestuia.

c) **γ -Tocoferolul** sau 2,7,8 - trimetil - 2 - (4',8',12' - trimetil - tridecil) - 6 - hidroxicroman:



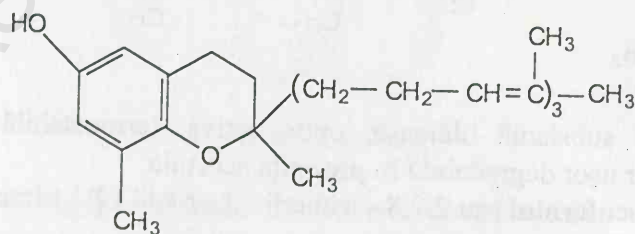
A fost izolat pentru prima dată din uleiul de semințe de bumbac. Ca și ceilalți tocoferoli, se sintetizează în plantele verzi, la nivelul cloroplastelor. Prezintă proprietăți fizice și chimice comune tuturor tocoferolilor, iar activitatea vitaminică este mai slabă decât a α și β -tocopherolilor; în schimb activitatea antioxidantă este mai intensă.

d) δ -Tocopherolul sau 2,8 - dimetil - 2 - (4',8',12' - trimetil - tridecil) - 6 - hidroxicromanul se deosebește de tocoferolii precedenți prin prezența unei singure grupări metilice la nucleul benzenic:



Activitatea vitaminică a δ -tocopherolului este mult inferioară tocoferolilor descriși mai sus (comparativ cu α -tocopherolul este de 100 de ori mai puțin activ), dar activitatea antioxidantă este, în schimb, mult superioară, fiind unul dintre cei mai eficienți protectori antioxidanți ai retinolului.

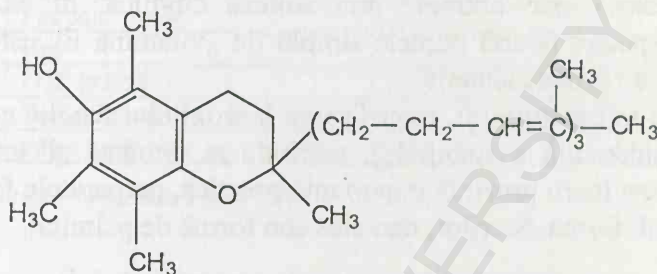
e) ϵ -Tocopherolul sau 2,5,8 - trimetil - 2 - (4',8',12' - trimetil - trideca - 3',7',11' - trienil) - 6 - hidroxicromanul se deosebește de ceilalți tocoferoli prin prezența unei catene laterale nesaturate:



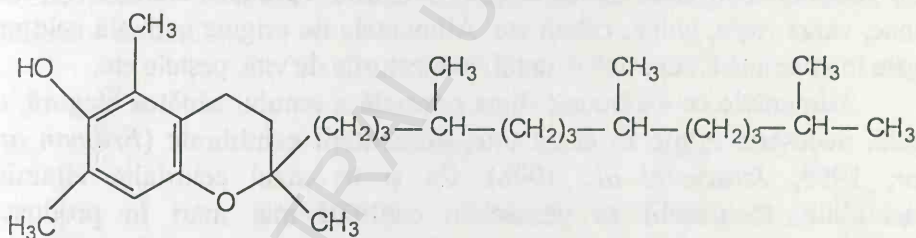
A fost izolat prima dată din germeii de grâu, fiind apoi identificat și în ovăz, orez și alte cereale.

f) ζ -Tocoferolul se întâlnește în uleiul de palmier și cereale sub două forme:

– ζ -Tocoferolul sau 2,5,7,8 - tetrametil - 2 - (4',8',12' - trimetil - trideca - 3',7',11' - trienil) - 6 - hidroxicroman:

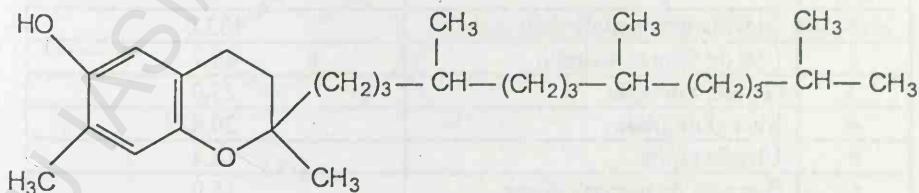


- ζ_2 -Tocoferolul sau 2,5,7 - trimetil - 2 - (4',8',12' - trimetil - tridecil) - 6 - hidroxicroman:



Activitatea vitaminică este mai scăzută decât a α -tocoferolului, dar mult superioară δ -tocoferolului.

g) η -Tocoferolul sau 2,7 - dimetil - 2 - (4',8',12' - trimetil - tridecil) - 6 - hidroxicromanul a fost izolat, de asemenea, din cereale:



Toți tocoferolii prezintă importante proprietăți antioxidante din care cauză ei îndeplinesc o funcție majoră de neutralizare a radicalilor liberi ce se

acumulează în țesutul adipos. Tocoferolii α , β , γ și δ corespund aditivilor alimentari E 306, E 307, E 308 și respectiv E 309.

Numeroase preparate de vitamină E sintetică poartă, în mod eronat, inscripția „produs natural”. Pentru a identifica produsul cu adevărat natural, se urmărește compoziția preparatului. Dacă acesta conține D- α -tocoferol este vorba de un produs natural, iar dacă substanța activă este D,L- α -tocoferol, aceasta este obținută prin sinteză chimică. În cazul în care preparatul respectiv poartă numele simplu de „vitamină E” este vorba, de asemenea, de un produs sintetic.

Pentru toți tocoferolii, esterificarea hidroxilului fenolic conduce la o creștere considerabilă a stabilității, mărindu-se totodată și activitatea lor biologică. Acest lucru prezintă importanță practică, preparatele farmaceutice livrându-se sub forma esterilor, mai ales sub formă de palmitat.

2.3.3. Stare naturală

Tocoferolii sunt răspândiți destul de larg în natură, cantitățile cele mai mari găsindu-se în boabele cerealelor, uleiurile vegetale, arahide, mazăre, spanac, varză roșie, polen, cătină etc. Alimentele de origine animală cele mai bogate în vitamină E sunt ouăle, untul, brânzeturile de vită, peștele etc.

Alimentele ce alcătuiesc dieta normală a omului sănătos asigură, de regulă, necesarul zilnic în cazul unei alimentații echilibrate (*Erdman and Peor*, 1998; *Jensen et al.*, 1998). Ca și în cazul celorlalte vitamine liposolubile, tocoferolii se găsesc în cantități mai mari în produsele alimentare cu o anumită pondere a lipidelor (tabelul 2.6).

Tabelul 2.6

Conținutul în vitamină E al unor produse alimentare*

Nr. crt.	Sursa alimentară	mg vitamină E / 100 g
1	Ulei din germeni de grâu	133,0
2	Ulei de floarea soarelui	48,7
3	Germeni de grâu	27,0
4	Nuci și migdale	20,0
5	Ulei de rapiță	18,4
6	Germeni de porumb și orz	15,0
7	Ulei de arahide	13,0
8	Soia	11,0
9	Arahide proaspete	8,1

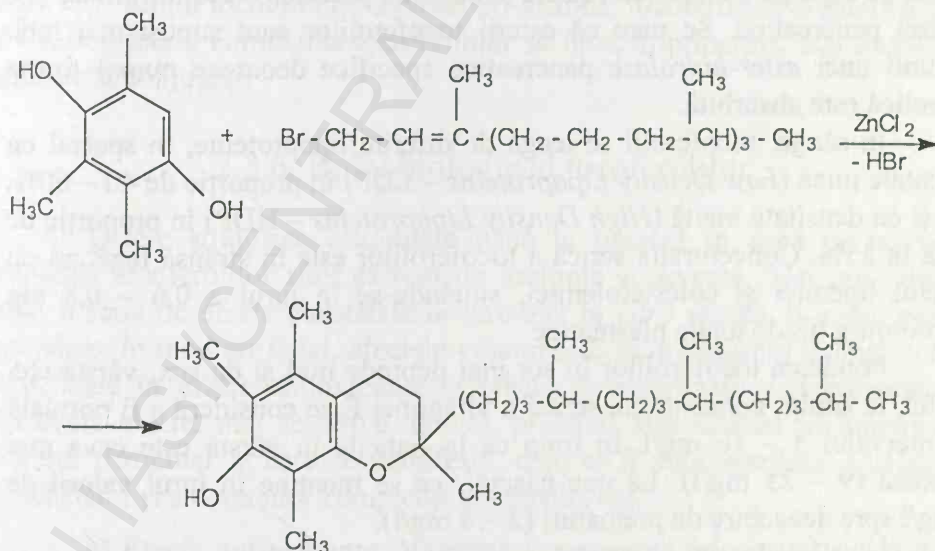
Tabelul 2.6 (continuare)

10	Ton	6,3
11	Ulei de măsline	5,1
12	Dude	3,5
13	Smântână	3,5
14	Sparanghel	2,5
15	Spanac	2,0
16	Pătrunjel verde	1,8
17	Unt	1,5
18	Ouă, brânză	1,0
19	Tomate și varză	1,0
20	Pâine integrală	1,0

*L'Encyclopédie Médicale, Paris, 2003.

2.3.4. Sinteza chimică a tocoferolilor

α -Tocoferolul, sub forma amestecului racemic, a fost sintetizat prima dată în 1939 de către Karrer care a utilizat pentru aceasta 2,3,5-trimetilhidrochinona și bromura de fitil, cuplarea realizându-se în prezența unui catalizator de ZnCl_2 :



Ulterior, au fost puse la punct și alte procedee de sinteză care utilizează fitolul natural extras și purificat din țesuturi vegetale sau

halogenuri de fitil și 2,3,5-trimetilfenolul sau unii derivați ai acestuia. În industria farmaceutică se realizează extracția fitolului mai ales din frunzele de urzică.

În ultimul timp, se folosește izofitolul sintetizat prin condensarea acetonei și acetilenei în mediu alcalin urmat de hidrogenarea parțială a produsului de condensare în prezența catalizatorilor de paladiu.

În practica medicală se utilizează, însă și tocoferoli naturali extrași din uleiurile vegetale, în special din germenii de grâu sau uleiul de cătină. Concentratele obținute prin extracție conțin maximum 65% α -tocoferol.

2.3.5. Metabolismul tocoferolilor

Plantele verzi, în special gramineele, sintetizează tocoferolii utilizând fitolul ce participă și la sinteza clorofilei.

În experimente pe animale de laborator, s-a demonstrat că organismele animale sunt incapabile să sintetizeze această vitamină, chiar dacă li se administrează fitol și trimetilhidrochinonă.

La animale și la om, tocoferolii sunt aduși în organism odată cu hrana fiind absorbiți la nivelul intestinului subțire. Absorbția intestinală este legată de digestia substanțelor grase și necesită prezența sărurilor biliare și a lipazei pancreatice. Se pare că esterii tocoferolilor sunt supuși mai întâi acțiunii unei *ester-hidrolaze* pancreatice specifice deoarece numai forma alcoolică este absorbită.

În sânge, tocoferolii se leagă de diferite lipoproteine, în special cu densitate mică (*Low Density Lipoproteins* – LDP) în proporție de 40 – 60%, dar și cu densitate înaltă (*High Density Lipoproteins* – HDP) în proporție de până la 35%. Concentrația serică a tocoferolilor este în strânsă legătură cu nivelul lipemiei și colesterolemiei, situându-se în jurul a 0,6 – 0,8 mg tocoferoli/g lipide totale plasmatică.

Ponderea tocoferolilor în ser mai depinde însă și de sex, vârstă etc. Astfel, la adulți, concentrația serică a vitaminei E se consideră a fi normală în intervalul 5 – 16 mg/l, în timp ce la femeile în vârstă este ceva mai crescută (9 – 25 mg/l). La nou-născuți, ea se menține în jurul valorii de 5 mg/l spre deosebire de prematuri (2 – 4 mg/l).

În clinicile de obstetrică și ginecologie se determină deseori și raportul concentrațiilor tocoferolilor din sângele mamei și noului născut care trebuie să se situeze între 2,6 – 5,7. Dacă nivelul seric, exprimat în mg tocoferoli/l, prezintă diferențe neînsemnate între sexe, cantitatea de vitamină

raportată la kilocorp este mult diferită (în jur de 50 mg/kg la bărbați și, respectiv, 160 mg/kg la femei).

După adsorbția intestinală și vehicularea sanguină sub formă de chilomicroni, tocoferolii sunt stocați, în principal, în țesutul adipos și hepatic, dar cantități detectabile se întâlnesc în toate țesuturile. În globulele roșii, există situsuri de legare a tocoferolilor care sunt de natură proteică și prezintă caracteristici biologice de receptori. A mai fost izolată, din citosol, o proteină hepatică ce leagă foarte puternic α -tocoferolul.

Receptorii vitaminei E din alte țesuturi sunt încă insuficient studiați; se pare însă că aceștia sunt localizați nu numai în membranele celulare, ci și în citosol, membranele organitelor celulare, în special cele microsomale, precum și în nucleu.

Fixarea unei anumite cantități de tocoferoli de membranele biologice este demonstrată de faptul că, în experimentele de provocare a carenței de vitamină E la animalele de laborator, în prima fază se observă o diminuare cu aproximativ 50% a tocoferolilor la nivel hepatic și cardiac în primele 2-3 săptămâni, după care urmează un platou, cu o scădere foarte lentă, fapt ce denotă existența unei fracții non-labile.

Eliminarea din organism se face, în principal, prin bilă și fecale sub formă mai ales de tocoferoli liberi, dar și sub forma unor derivați oxidați cum ar fi acidul tocoferonic, tocoferono-lactona, tocoferil-*para*-chinona etc. Pe cale urinară, eliminarea tocoferolilor se face, în principal, sub formă de glucuronoconjugați.

2.3.6. Rolul biologic al tocoferolilor

Datele științifice acumulate până în prezent în ceea ce privește acțiunea tocoferolilor sunt extrem de multiple și diverse. Mai mult decât atât, o serie de efecte constatate *in vivo* sau *in vitro* rămân, în mare parte, ipotetice. În mod artificial, efectele vitaminei E în organismul animal pot fi clasificate în efecte antioxidante și efecte de stabilizare a membranelor. Celelalte efecte, mai selective, derivă, probabil, din acestea în funcție de nivelul particular la care se manifestă, cum ar fi autohemoliza, agregarea plachetelor și a diversilor complecși enzimatici etc.

a) **Efecte antioxidante.** Vitamina E reprezintă principalul antioxidant ce acționează la nivelul membranei celulare. Procesele de oxidare sunt procese absolut necesare asimilării substanțelor nutritive și funcționării normale a tuturor organelor și a sistemului imunitar. Când procesele

oxidative decurg însă foarte intens, ele sunt mai mult dăunătoare decât benefice datorită generării unor concentrații mari de radicali liberi, condiții în care intervin mecanismele de protecție antioxidantă.

Vitamina E reprezintă principalul agent ce limitează formarea acestor radicali și este protejată, la rândul ei, de către vitamina C (Brown et al., 2002; Hambraeus, 1984, Kitts, 1997).

La nivel tisular, oxigenul se comportă mai puțin ca o moleculă stabilă și mai mult ca „doi radicali liberi legați unul de altul”, iar reducerea sa în etape, cu formare de apă este însoțită de producerea de alți radicali de oxigen: O (singlet de oxigen sau oxigen atomic), O_2^- (superoxid), H_2O_2 (hidroperoxid), $HO\cdot$ (hidroxiradical) etc.

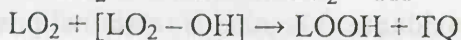
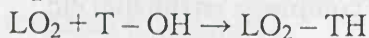
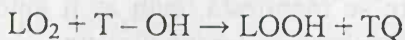
Dacă în unele privințe acești radicali prezintă utilitate biologică (efect bactericid, limfocitotoxicitate etc.), ei fiind, în general, substanțe toxice capabile să destabilizeze majoritatea biomoleculelor, cu precădere acizii grași nesaturați și analogii lor.

Procesele ce stau la baza toxicității acestor radicali sunt amplificate de diferiți factori cum ar fi lumina, ionii metalici (în special cei de fier și cupru), acizi organici etc. În ceea ce privește acizii grași nesaturați, dar și alte molecule nesaturate, sub acțiunea radicalilor liberi se pot forma peroxizi într-o serie de reacții neenzimaticе.

In vivo, aceste procese de oxidare sunt permanente și menținute la un nivel minim. Organismele vii dispun de numeroase sisteme de protecție antioxidantă capabile să le protejeze de această agresiune continuă. Tocoferolii reprezintă „modalitatea de a economisi” radicalii liberi cea mai eficientă.

Activitatea lor antioxidantă se realizează la nivelul membranelor și este facilitată de prezența în moleculă a catenei laterale izoprenoidice capabile să se integreze în componenta lipidică prin interacțiunile hidrofobe.

Rolul de donator de hidrogen este facilitat de prezența grupării hidroxilice la C_6 din nucleul croman. Printr-o serie de transformări insuficient elucidate, tocoferolii formează unii produși stabili, transformându-se în chinone, sau în derivați complecși ai peroxizilor lipidici. Schematic, aceste transformări pot fi redată astfel:



unde:

LO_2 – peroxid lipidic;

$LOOH$ – hidroperoxid lipidic;

T – OH – tocoferol;
TQ – tocoferil-chinonă.

În organismele vii există, însă, mai multe sisteme de protecție antioxidantă: pirimidinnucleotide reduse, tioaminoacizi, unele proteine cum ar fi ceruloplasmina și transferina, sisteme enzimatice specifice (*superoxid-dismutaza, catalaza* etc.), vitamina C și altele (Murray et al., 2001). Într-o serie de transformări ce au drept scop „amortizarea” radicalilor liberi, poate exista un sinergism între vitamina E și unele din aceste sisteme antioxidante. Astfel, mai bine studiat este mecanismul de acțiune al glutatationului în descompunerea peroxizilor lipidici și a hidroxiacizilor derivați unde există o cooperare între glutatation și vitamina E (fig. 2.7).

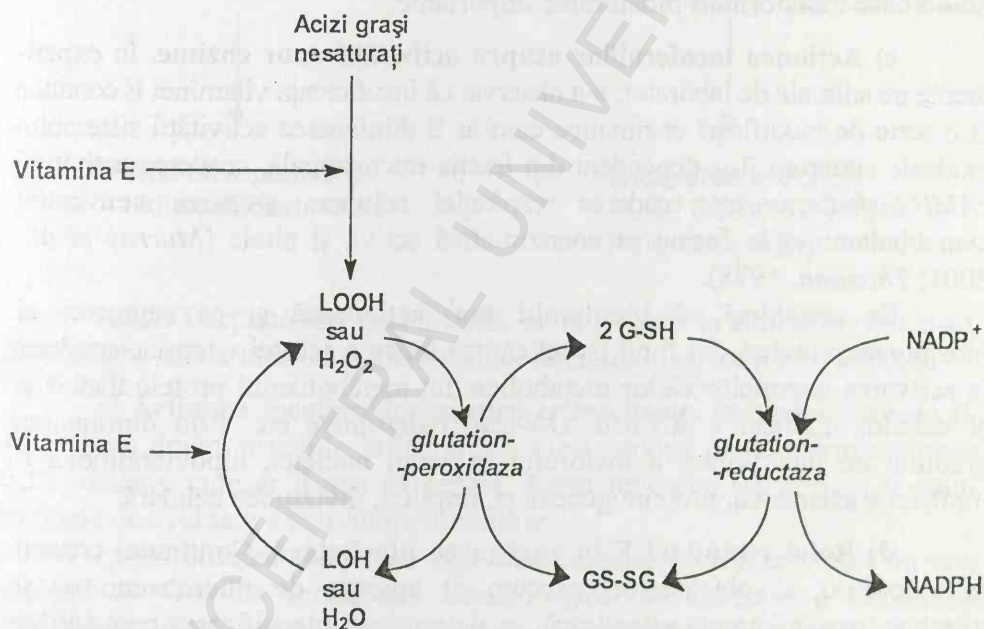


Figura 2.7. Sinergismul glutatationului și vitaminei E în descompunerea peroxizilor lipidici (Terroine, 1986).

Glutathione-peroxidaza este o enzimă seleniu-dependentă. S-a observat că insuficiența seleniului în hrană provoacă unele simptome caracteristice hipovitaminozei E și invers, insuficiența tocoferolilor este parțial compensată de un aport ușor excedentar de seleniu.

b) Efecte de stabilizare a membranei celulare. Activitatea de protecție antioxidantă *in vivo* a tocoferolilor este demonstrată experimental

cunoscându-se, în special, necesitățile crescute în vitamină E în cazul unui conținut sporit al alimentelor în acizi grași nesaturați. Mecanismele de acțiune sunt, însă, mult mai puțin studiate comparativ cu ale altor antioxidanți.

Acest lucru i-a determinat pe *Lucy* și *Diplack* să sugereze ideea că tocoferolii participă la formarea și stabilizarea componentei fosfolipidice a membranelor, iar efectul de stabilizare poate fi independent de efectul antioxidant.

Se consideră că grupele metil grefate pe radicalul fitil al tocoferolilor prezintă afinitate față de unele situsuri ale straturilor fosfolipidice.

Aranjamentul tridimensional al complexului astfel constituit permite hidroxilului grefat pe nucleul croman și grupelor polare ale acizilor grași să se orienteze foarte aproape de faza apoasă, locul unde se realizează numeroase transformări biochimice importante.

c) Acțiunea tocoferolilor asupra activității unor enzime. În experimente pe animale de laborator, s-a observat că insuficiența vitaminei E conduce la o serie de modificări enzimatică cum ar fi diminuarea activității sistemului oxidazic citocrom P₄₅₀-dependent din fracția microsomală, creșterea activității *cAMP*-fosfodiesterazei, scăderea respirației celulare, stoparea conversiei ciancobalaminei în forma sa coenzimatică activă și altele (*Murray et al.*, 2001; *Thimann*, 1978).

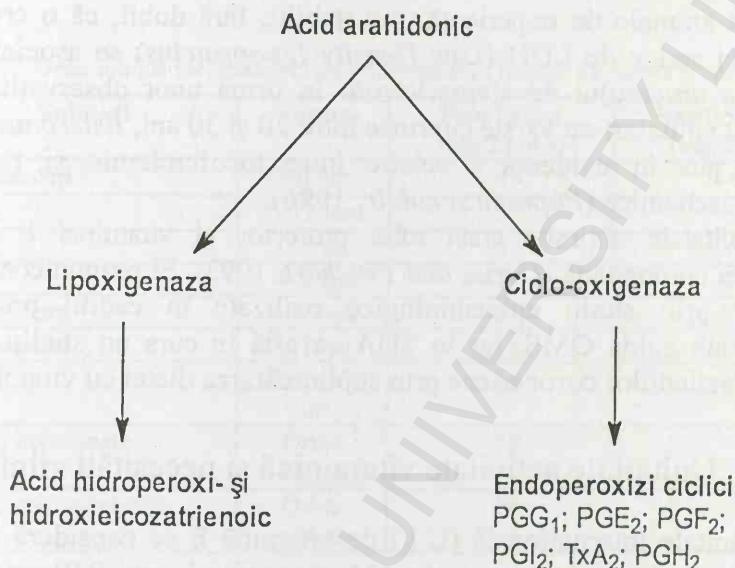
Se consideră că tocoferolii mai acționează și ca represori ai biosintezei proteice, dat fiind faptul că insuficiența acestei vitamine conduce la activarea enzimelor căilor metabolice din metabolismul proteic tisular și al acizilor nucleici – *RN-aza*, *DN-aza*, *catepsinele* etc. Prin diminuarea gradului de încorporare a fosforului în acizii nucleici, hipovitaminoza E inhibă, de asemenea, proteinogeneza și, implicit, diviziunea celulară.

d) Rolul vitaminei E în agregarea plachetară. Conținutul crescut în tocoferoli al plachetelor, precum și apariția de microtromboze și trombocitoze în carența vitaminică, au determinat intensificarea cercetărilor asupra rolului vitaminei E în agregarea plachetară.

În experimentele pe șobolani, s-a constatat faptul că hipovitaminoza E induce o creștere a agregării plachetare. Acest fapt poate fi explicat fie prin creșterea permeabilității membranelor față de cationi (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} etc.), fie printr-o modificare a vitezei de biosinteză a prostaglandinelor la nivelul plachetelor, cu atât mai mult cu cât s-a observat și o creștere a concentrației sanguine în PGE₂ și PGF₂.

Aceștia sunt produși de oxidare a acidului arahidonic și sunt cunoscuți ca având o capacitate mare de agregare. În același timp, oxidarea

cică a acidului arahidonic este, la rândul ei, modulată de către peroxiacizii formați prin oxidarea sa necică. Tocoferolii acționează asupra acestui sistem complex prin diminuarea activității *lipoxidazei* plachetare:



Această acțiune este însă diferită, de la un țesut la altul observându-se, de exemplu, efecte la nivelul microsomilor din mușchi și, respectiv, testicule.

e) Acțiunea tocoferolilor asupra eritrocitelor. În hipovitaminoza E, eritrocitele devin sensibile la hemoliză, efect produs *in vivo* prin acțiunea unor oxidanți cum ar fi apa oxigenată. Acest fenomen stă la baza testului biologic de evaluare a activității vitaminice E.

La majoritatea animalelor hipovitaminizate, această anomalie nu este însoțită *in vivo* de modificări hematologice. O excepție o constituie maimuțele *Maccacus rhesus* la care se observă, după 5–30 luni, apariția anemiei macrocitare cu sensibilitate a eritrocitelor față de oxidanți, dimorfism al celulelor precursorale ale eritrocitelor și răspuns terapeutic foarte rapid la tratamentul substitutiv. Această fragilitate a eritrocitelor este cauzată de creșterea rigidității și a permeabilității membranelor globulelor roșii față de ioni.

Tocoferolii intervin, de asemenea, în procesul biosintezei hemului modulând în felul acesta nu numai biosinteza hemoglobinei, ci și a enzimelor hem-dependente (*citocromi*, *catalaza* etc.). Duriez și Fruchard au stabilit, în 1993, posibilitatea existenței unei relații de cauzalitate între

nivelul sanguin de tocoferol și incidența aterosclerozei coronariene. Ateroscleroza este o maladie de etiologie extrem de diversă.

Lipoproteinele se numără printre factorii ce contribuie la formarea de leziuni arteriale ateromatoase. În studii clinice recente, precum și în cercetări pe animale de experiență, s-a stabilit, fără dubii, că o creștere a concentrației serice de LDH (*Low Density Lipoproteins*) se asociază cu o accelerare a procesului de ateroscleroză. În urma unor observații clinice efectuate pe voluntari cu vârste cuprinse între 20 și 30 ani, *Esterbauer et al.*, (1991) au pus în evidență o relație între tocoferolemie și riscul de cardiopatie ischemică (*Popescu și colab.*, 1996).

Rezultatele obținute arată rolul protector al vitaminei E față de ateroscleroza coronariană (*Duriez and Fruchart*, 1993). Ei propun continuarea cercetărilor prin studii epidemiologice realizate în cadrul proiectului MONICA sub egida OMS, iar în SUA se află în curs un studiu privind prevenirea maladiilor coronariene prin suplimentarea dietei cu vitamină E.

2.3.7. Unități de activitate vitaminică și necesități zilnice

O unitate internațională (U.I.) de vitamină E se consideră ca fiind echivalentă cu 1mg de acetat de D,L- α -tocoferol sau 0,91mg D,L- α -tocoferol liber, respectiv, 0,67 mg D- α -tocoferol liber.

Necesarul de vitamină E este relativ greu de stabilit, fiind în strânsă interdependență cu conținutul alimentar în acizi grași nesaturați. În anii '60, OMS a stabilit un necesar zilnic de 13–20 mg α -tocoferol pentru adulți, pentru ca în '80 să reducă la aproximativ 10 mg/zi.

Actualmente calculul necesarului zilnic se face în funcție de conținutul alimentelor în acizi grași nesaturați.

Se consideră că raportul optim mg tocoferoli/g acizi grași nesaturați se situează în jurul valorii de 0,6. Recent (*Traber et al.*, 1985; *Traber and Arai*, 1999; *Traber*, 2004), Institutul Linus Pauling din Oregon a stabilit doza zilnică de vitamină E recomandată în funcție de sex și vârstă, respectiv în funcție de anumite condiții fiziologice cum ar fi, de exemplu, sarcina sau perioada de alăptare (tabelul 2.7).

Pentru populația nord-americană și vest-europeană, necesarul în vitamină E se consideră a fi de aproximativ 1,2 ori mai mare decât pentru restul populației globului datorită creșterii ponderii uleiurilor vegetale din alimente. La nou născuți și la prematuri, aportul zilnic de vitamină E se consideră a fi cuprins între 5 – 50 mg, în funcție de alimentație (laptele matern conține acizi grași nesaturați, în special acid linoleic în proporție de

aproximativ 8% din totalul lipidelor, în timp ce, în laptele de vacă sau preparatele de lapte praf, ponderea acestora este mult mai mare ajungând până la 50%) (Ottaway, 1993; Parker, 1989; Shortt, 1990).

Tabelul 2.7

Doza zilnică recomandată de vitamină E în funcție de vârstă și sex*

Subiecți	Vârsta	Fete/Femei (mg/24 ore)	Băieți/Bărbați (mg/24 ore)
Nou născuți	0–6 luni	4	4
Copii	7–12 luni	5	5
Copii	1–3 ani	6	6
Copii	4–8 ani	7	7
Adolescenți	9–13 ani	11	13
Adolescenți	14–18 ani	15	16
Adulți	Peste 19 ani	15	16
Femei însărcinate	Orice vârstă	15	—
Femei care alăptează	Orice vârstă	19	—

* Linus Pauling Institute, 2003 (Freeman, 2004).

2.3.8. Tulburări de aport vitaminic

Avitaminoza E la om apare foarte greu comparativ cu alte avitaminoze și numai după absența tocoferolilor din alimente un timp îndelungat sau în timpul unor boli pancreatice și hepatice.

Cu toate acestea, carența vitaminei E produce o serie de simptome diferite în funcție de sex și vârstă. Acestea interesează diferite organe și sisteme, generând distrofie musculară, creatinurie, degenerarea testiculelor și apariția unor leziuni ireversibile ale tubilor seminiferi, moartea și resorbția fătului, anemie hemolitică etc. Principalele simptome clinice ale avitaminozei E se împart în mai multe categorii:

– simptome hematologice

- anemie hemolitică la prematuri;
- echimoze;
- cicatrizare dificilă a rănilor;
- β -talasemie;
- tulburări menstruale;

– **simptome neuromusculare și oftalmologice:**

- polineuropatii;
- miopatie;
- scăderea motricității oculare;
- diminuarea reflexelor motorii;
- eczeme;
- psoriazis;

– **simptome acute:**

- sindromul Kxashiorkor (malnutriție proteică globală) întâlnit în principal în țările sărace;
- anemie;
- dereglări ale sistemului nervos central;
- retinopatii.

La copiii născuți cu o deficiență de vitamină E, nivelul plasmatic al α -tocoferolului este în jur de 5 $\mu\text{g/ml}$ (11,6 $\mu\text{mol/l}$). Copiii mai mici sau născuți prematur prezintă un grad mai ridicat de deficiență în vitamina E.

La copiii prematuri această deficiență persistă în timpul primelor câteva săptămâni de viață și poate fi atribuită unui transfer placentar limitat de vitamină E și, de asemenea, poate fi asociată cu incidența unei malabsorbții intestinale defectuoase.

a) Influența avitaminozei E asupra sistemului muscular

La nivelul acestui sistem, hipo- și avitaminoza E conduc la apariția distrofiei musculare prin accelerarea activității enzimelor proteolitice la acest nivel și liza parțială a proteinelor musculare. Incidența distrofiei musculare este mai mare la prematuri, noii născuți cu tulburări la nivelul absorbției intestinale, copiii malnutriți și la persoanele adulte cu maladii cronice ce provoacă o absorbție deficitară (steatoree, malabsorbție etc.). Aceasta se caracterizează prin fragmentări ale fibrelor musculare, edem interstițial, necroză și altele.

Unul dintre parametrii biochimici importanți în depistarea precoce a avitaminozei E îl constituie creatinuria deoarece cantitatea de creatinină din mușchi scade, concomitent cu creșterea eliminărilor pe cale renală în debutul leziunilor musculare. Acest fenomen se explică prin faptul că are loc o scădere a capacității musculare de a transforma creatina în creatin-fosfat datorită diminuării activității *creatin-kinazei*.

Prin creșterea creatinuriei are loc, concomitent, și o creștere a raportului creatină/creatinină, acesta reprezentând în același timp un alt test biochimic de determinare indirectă a aportului de tocoferoli alimentari.

Instituirea vitaminoterapiei acționează în mod diferit, în funcție de vârstă: dacă la copii primul efect îl constituie dispariția creatinuriei, la adult aceasta mai persistă încă mult timp.

Datorită faptului că mușchiul cardiac conține o cantitate aproximativ dublă de tocoferoli (în special sub formă de tocoferil-chinone) comparativ cu citocromul c, se presupune că vitamina E participă și la metabolismul cardiac, insuficiența ei putând conduce la insuficiența miocardului. Accelerarea procesului de proteoliză conduce la aminoacidurie și alantoinurie.

Distrofia musculară este, de fapt, un proces mai complex ce constă într-o accelerare a catabolismului componentilor celulari (glucide, proteine, acizi nucleici). Această intensificare a proceselor catabolice se explică prin creșterea fragilității mitocondriilor și lizozomilor în carența vitaminei E, fapt ce conduce la o creștere a eliberării hidrolazelor din aceste organite celulare.

b) Anemia hemolitică

Aceasta a reprezentat primul sindrom caracteristic, atribuit deficitului de vitamină E, descris la om. Se întâlnește, cu precădere, la prematuri la care se observă anemie cu reticulocitoză după 4–6 săptămâni. Uneori, ea este însoțită de edeme ale membrelor inferioare. Crește concomitent gradul de autohemoliză.

Se presupune existența mai multor factori ce contribuie la instalarea avitaminozei E la prematuri: rezervele scăzute de tocoferoli ale fœtus-ului (3–7 mg/kg comparativ cu 50–160 mg/kg la adulți), nivelul scăzut al absorbției digestive în primele trei luni, conținutul scăzut al laptelui matern în tocoferoli (5–6 mg/l), ponderea mare a acizilor grași nesaturați în laptele praf etc.

Prin tratamentul cu tocoferoli la copiii mici (sub 3 ani) care prezentau anemie megaloblastică rezistentă la ciancobalamină și acid folic, s-a observat o creștere rapidă a hematiilor cu normalizarea hemoleucogramei și mielogramei. Cu toate acestea, observațiile clinice și datele experimentale privind apariția anemiei hemolitice la prematuri ca urmare a instalării avitaminozei E rămân contradictorii, necesitând aprofundarea în acest domeniu.

c) Sindromul neurodegenerativ

La copii născuți la termen, cu un stoc vitaminic normal, dar care ulterior nu poate fi reînnoit din cauza unei absorbții intestinale defectuoase,

se dezvoltă progresiv hipovitaminoza E cu manifestări, în primul rând, neurologice. Cuplată cu insuficiența pancreato-biliară, aceasta determină și hipoplazia biliară intrahepatică, când absorbția intestinală este puțin afectată sau hepatopatie, o formă relativ ușoară când organismul supraviețuiește un timp destul de îndelungat. Principalele elemente ale sindromului neurodegenerativ sunt următoarele:

- disfuncționalități periferice de tipul polineuropatiei, nemanifestate până la 6–10 ani. Studiul anatomic relevă degenerescenta axonală și depozite lipopigmentare intraneurale și în celulele Schwan. Distrofia musculară se dezvoltă concomitent cu o denervare cronică și miopatie, însoțită de degenerescenta lipopigmentară a fibrelor musculare;

- disfuncționalități la nivelul sistemului nervos central care se manifestă clinic prin tulburări oculomotorii conjugate, ataxie și atrofie corticală la nivelul cerebelului etc.

Leziunile neuropatologice la om au fost descrise, în mare parte, înaintea descrierii simptomelor clinice, cu ajutorul datelor obținute prin necropsia pacienților decedați în urma ateziei biliare. S-au observat, în toate cazurile, dilatații axonale de formă sferică ce conduc la degenerescenta fibrelor nervoase;

- disfuncționalități retiniene care debutează prin modificări ale electroretinogramei și continuă prin retinopatie pigmentară oftalmoscopică. Aceste disfuncționalități sunt legate, probabil, de faptul că acțiunea antioxidantă a tocoferolilor se manifestă și față de retinol, iar avitaminoza E conduce implicit și la o creștere a utilizării vitaminei A.

d) Influența avitaminozei E asupra organelor genitale și embrionului

Când embriogeneza are loc într-un organism matern cu carență vitaminică E, are loc, mai întâi, o dereglare a dezvoltării cavității ectodermice, apoi la nivel placentar, cu perturbarea proliferării vasculare fetale. La bărbați, atrofia testiculară este cauzată de o degenerescentă ireversibilă a epiteliilor tubilor seminiferi în avitaminoza E avansată.

Spermatozoizii își pierd mobilitatea după care dispar complet. Aceste leziuni sunt reversibile doar dacă tratamentul se instituie în debutul simptomelor carențiale. Se consideră că procesele degenerative devin ireversibile în momentul în care dispar spermatozoizii.

La femei, în primul stadiu al carenței, nu apar leziuni morfologice sau funcționale ale ovarelor, modificări ale aparatului genital femel apărând

doar în stadiile avansate ale avitaminozei. Acestea se manifestă prin degenerarea musculaturii netede uterine, pigmentarea crescută a acestora cu fibromatoză etc.

e) Influența avitaminozei E asupra mecanismului imunitar

La păsările și mamiferele cu carență în vitamină E s-au observat modificări ale imunității umorale, ale răspunsului limfocitar, ale răspunsului față de infecțiile bacteriene, precum și ale răspunsului anafilactic.

2.3.9. Grupe de risc

Ca și în cazul altor avitaminoze, există anumite categorii de populație la care, riscul apariției avitaminozei E este mai ridicat decât la restul populației. Principalele grupe de risc la care frecvența apariției avitaminozei E este mai mare sunt:

- prematuri;
- copii cu anomalii ale căilor biliare și β -lipoproteinemie (maladie autosomală recesivă);
- adulți cu sindrom Crohn, rezecții intestinale, anemii hemolitice congenitale (drepanocitoză, talasemie, deficit de *glucozo-6-fosfat-dehidrogenază* etc.);
- alcoolicii cronici;
- femei în vârstă;
- persoane supuse dializei;
- bolnavii de cancer;
- bolnavii cu diferite maladii gastrointestinale (ciroză, pancreatită, sindromul Zieve etc.).

2.3.10. Substanțe cu acțiune antagonistă tocoferolilor

Există numeroase substanțe chimice naturale sau sintetice care pot fi sau nu analogi structurali ai tocoferolilor și care provoacă simptome asemănătoare cu cele descrise pentru avitaminoza E. S-a observat astfel că α -tocoferil-chinona produce sterilitate la animalele de experiență, iar acetatul de *p*-cresol, tricrezil-fosfatul și 3,5-wilenolul acționează prin efecte toxice care conduc la o deficiență de tocoferoli. Printre antivitaminele E citate în literatură se numără piridina, bisulfitul de sodiu, sulfamidele, acizii grași nesaturați și altele (Terroine, 1986).

2.4. Vitamina K (filochinone, vitamina coagulării, vitamina antihemoragică, factorul protrombinic)

2.4.1. Generalități

Dintre vitaminele liposolubile, vitamina K este cea mai recent descoperită. Sub termenul de „vitamină K” este reunit un ansamblu de substanțe liposolubile, derivate de la nucleul 2-metil-1,4-naftochinonic ce participă, în principal, la activarea unor factori ai coagulării sanguine: protrombina (II), proconvertina (VII), factorul antihemolitic B (IX), factorul Stuart (X) și proteinele C și S descoperite recent. În urma unor cercetări efectuate în 1929 pe pui de găină privind studiul metabolismului colesterolului, biochimistul danez *Carl Peter Henrik Dam* observă apariția unor hemoragii sanguine care nu cedează la administrarea vitaminelor C, A, D și E cunoscute deja la acea vreme (*Dumitru, 1970*).

În urma acestor observații, Dam postulează existența unui nou factor liposolubil pe care îl denuște vitamină K (după termenul german *Koagulation*, comunicarea lui Dam fiind publicată în limba germană). În 1936, același Dam încearcă să purifice vitamina K utilizând lucerna ca sursă. În aceeași perioadă, *Schönheyder* remarcă absența protrombinei la animalele de experiență hrănite în mod similar (*Kolotilova, 1976*).

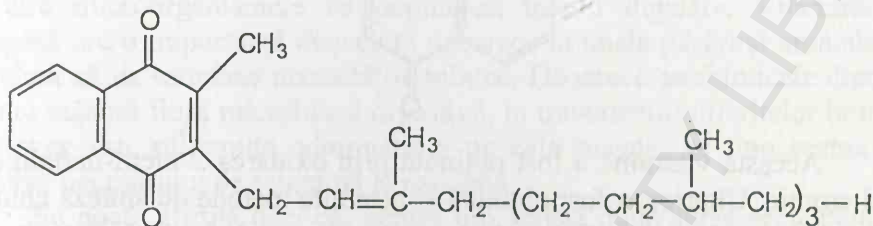
Existența vitaminei K este confirmată 6 ani mai târziu, când *Almquist* arată că ea se poate forma în timpul procesului de putrefacție vegetală și reușește obținerea unui preparat relativ pur prin extracție din lucernă. După 1937, sindromul hemoragic a mai fost descris și în alte condiții experimentale sau patologice la mamifere.

În 1939, este descifrată structura chimică a vitaminei K₁, iar sinteza ei chimică a fost făcută prima dată de către *Edward Doisy*, realizare pentru care autorul primește, în 1943, împreună cu Dam, premiul Nobel. Abia după 1960 a fost clarificat mecanismul de acțiune al vitaminei K asupra factorilor coagulării sanguine (*Gregory, 1996*).

2.4.2. Structura chimică și proprietățile vitaminelor K

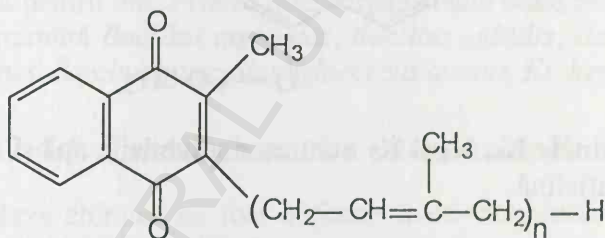
Toate vitaminele K, naturale sau sintetice, au comun nucleul 2-metil-1,4-naftochinonic. În prezent, se cunosc două forme naturale (notate K₁ și K₂) și mai mulți derivați sintetici ai acestei vitamine.

Vitamina K₁ (*filochinona* sau *fitomenadiona*) este 2-metil-3-fetil-1,4-naftochinona:



A fost izolată din frunzele de lucernă, urzici, tomate, iar, mai târziu, din ficatul mamiferelor. Este un lichid uleios ce cristalizează la -20°C . Se degradează foarte ușor sub acțiunea luminii și în mediu alcalin, precum și în prezența oxigenului din aer.

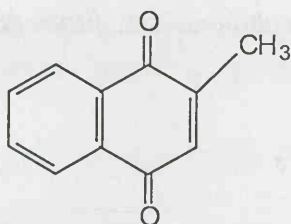
Vitamina K₂ (*farnochinona* sau *menachinona*) este 2-metil-3-difarnezil-1,4-naftochinona:



A fost izolată prima dată în 1939 din făina de pește. Se prezintă sub forma unui compus de culoare galbenă, optic activ. Faptul că farnochinona se găsește doar în făina de pește intrată în putrefacție, dar nu și în carnea proaspătă de pește, se explică prin aceea că această vitamină este sintetizată de către bacteriile de putrefacție. De altfel, flora microbiană intestinală umană sintetizează importante cantități de vitamină K₂.

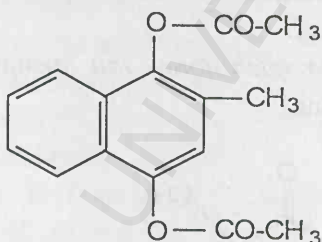
Ca și filochinona, este insolubilă în apă, dar solubilă în diferiți solvenți organici și în grăsimi. În funcție de numărul atomilor de carbon din catena laterală, vitamina K₂ este, de fapt, un amestec de mai multe vitamine notate K₂₍₁₀₎, K₂₍₂₀₎, K₂₍₃₀₎, K₂₍₃₅₎, K₂₍₄₀₎, K₂₍₅₀₎, în care indicele din paranteză definește lungimea acestei catene. Dacă vitaminele K₁ și K₂ sunt tipic liposolubile, formele sintetice ale vitaminei K sunt solubile în apă.

Vitamina K₃ (*menadiona*) este 2-metil-1,4-naftochinona:

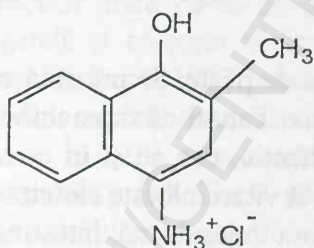
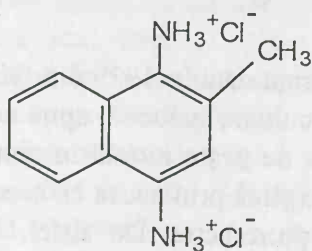
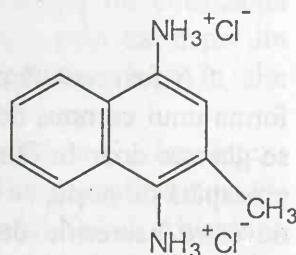


Această vitamină a fost obținută prin oxidarea 2-metil-naftalinei cu acid cronic. Ulterior, a fost obținută și prin alte metode de sinteză chimică. Este o substanță cristalină care se descompune ușor la lumină. Față de piele și căile respiratorii este iritantă, iar soluția sa alcalină este vezicantă.

Vitamina K₄ (menadiolul) nu este utilizabilă în practica medicală, dar constituie precursorul în sinteza filochinonei.



Vitaminele K₅, K₆ și K₇ sunt ușor solubile în apă și au fost obținute din 2-metil-naftalină.

vitamina K₅vitamina K₆vitamina K₇

2.4.3. Stare naturală

Vitamina K₁ se găsește, cu precădere, în organismele vegetale, cantitățile cele mai importate întâlnindu-se în părțile verzi ale acestora. Cele mai bune surse vegetale de vitamină K sunt spanacul, varza, conopida,

urzica, salata, loboda, mărarul, leușteanul, ceapa verde, iar ca sursă de obținere a preparatelor farmaceutice de vitamină K₁ se poate utiliza și lucerna.

În organismul mamiferelor, se realizează biosinteza vitaminelor K₂ de către microorganismele ce populează tractul digestiv. Vitamina K endogenă are o importanță deosebită deoarece la unele păsări și animale se consideră că ea satisface necesitățile zilnice. Deoarece antibioticele distrug în mare măsură flora microbiană digestivă, în tratamentul diferitelor boli cu antibiotice sau sulfamide administrate pe cale bucală, se ține seama de creșterea necesarului de vitamină K exogenă.

Se poate afirma deci că, pentru om, există două surse principale de vitamină K: a) alimentele de origine vegetală și animală; b) vitamina endogenă produsă de flora intestinală.

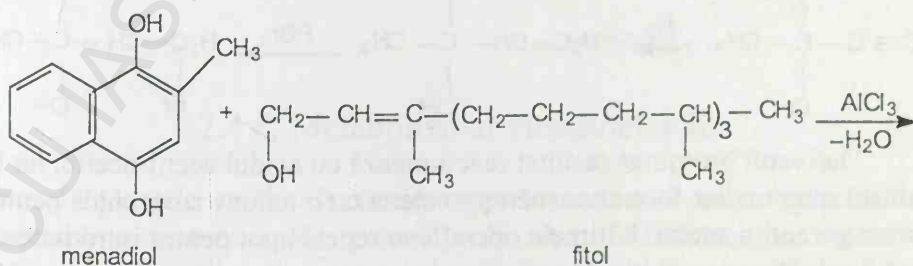
Legumele verzi conțin fitochinonă sau fitomenadionă (vitamina K₁), iar alimentele de origine animală conțin un amestec de menachinone și filochinonă.

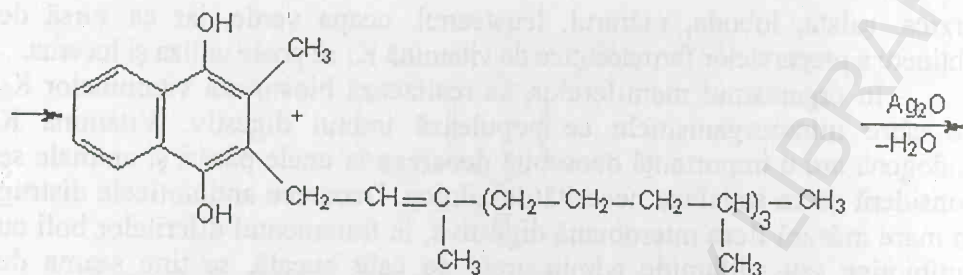
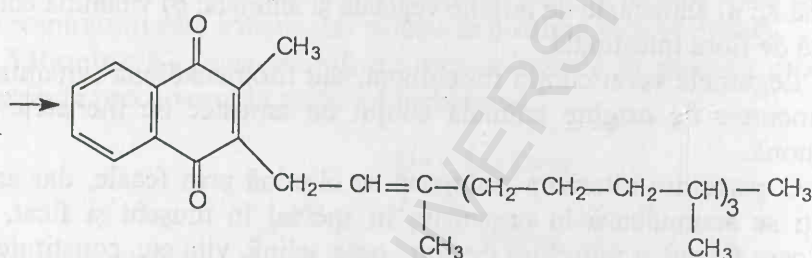
O parte din vitamina endogenă se elimină prin fecale, dar anumite cantități se acumulează în organism, în special în mușchi și ficat, motiv pentru care ficatul și mușchiul de porc, oaie, găină, vită etc. constituie o altă sursă vitaminică pentru om. Printre microorganismele bune producătoare de vitamină K se numără *Bacillus mycoides*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus aerogenes*, *Sarcina lutea*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* etc.

2.4.4. Sinteza chimică a vitaminelor K

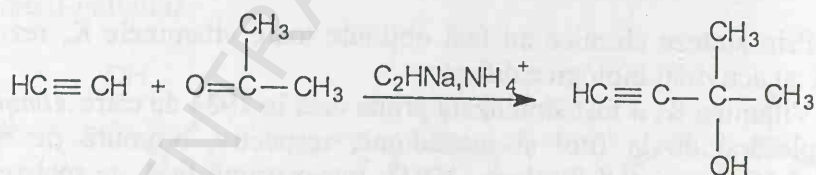
Prin sinteze chimice au fost obținute toate vitaminele K, rezultând produși cu activități biologice diferite.

Vitamina K₁ a fost sintetizată prima dată în 1934 de către *Almquist* și *Klose* plecând de la fitol și menadionă, respectiv, bromură de fitil și menadiol (*Greeves and Wothers, 2001*). Într-o primă fază, se realizează o condensare în prezența unor catalizatori (AlCl₃, KHSO₄, ZnCl₂). Se formează dihidroxi-vitamina K₁ care apoi, în prezența Ag₂O, se oxidează dând vitamina K₁:

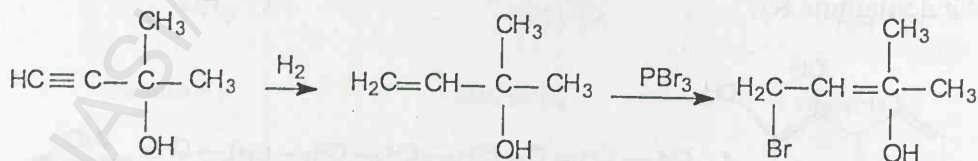


dihidroxi - vitamina K₁vitamina K₁

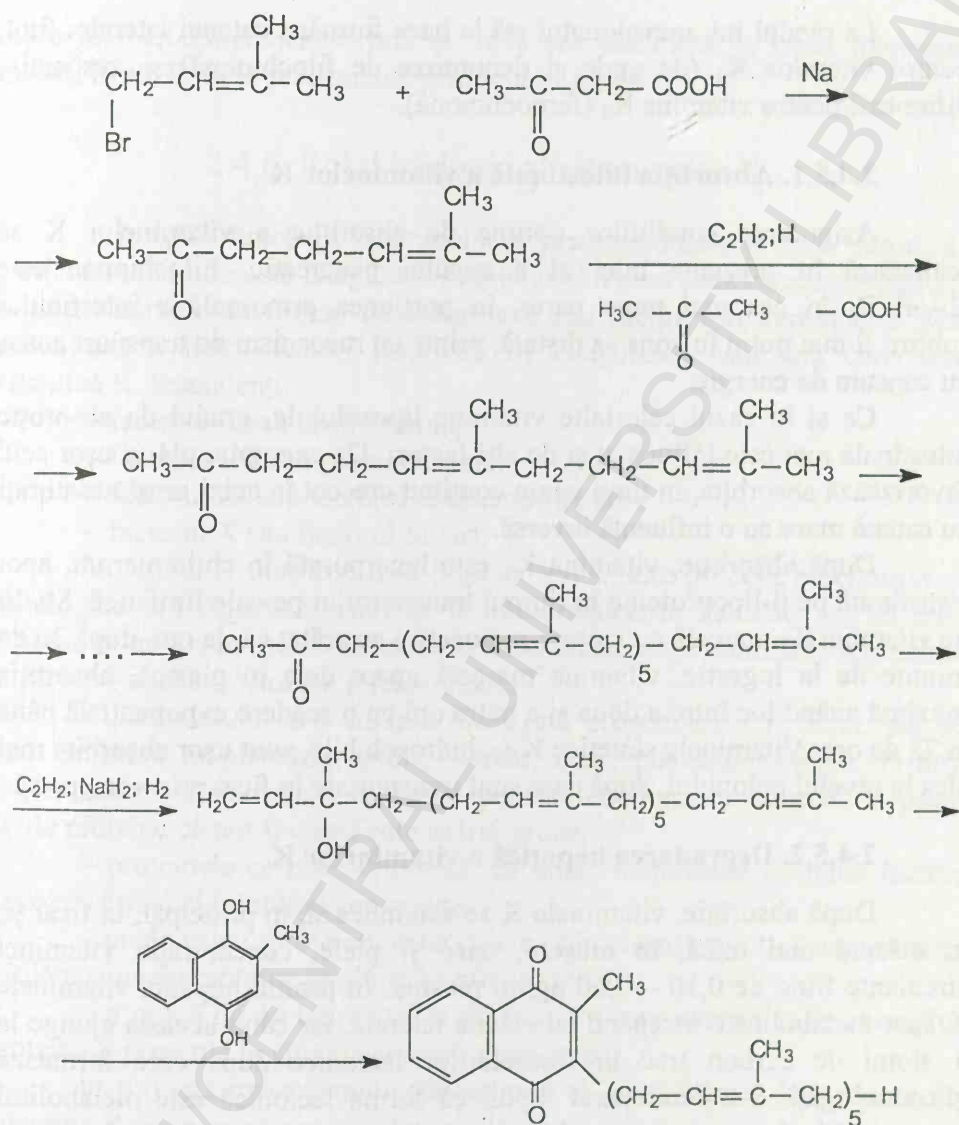
Pentru sinteza vitaminei K₂ se realizează mai întâi condensarea acetilenei cu acetona în prezența acetilurii monosodice și amoniacului:



Produsul format se reduce apoi la carbinol alilic care trece, prin tratare cu PBr₃, în bromură de 3-metil-2-butenil:



Derivatul bromurat rezultat reacționează cu acidul acetil-acetic, iar la produsul intermediar format se mărește catena cu o unitate izoprenică pentru a forma geranil-acetonă. Ultimele operații se repetă apoi pentru introducerea a încă 3 unități izoprenoidice:



vitamina K₂

2.4.5. Metabolismul vitaminelor K

În plantele verzi și în unele organisme animale are loc procesul de biosinteză a vitaminei K₁, respectiv K₂ prin utilizarea, în calitate de precursori, a 2-metil-naftochinonei și acidului mevalonic.

La rândul lui, mevalonatul stă la baza formării catenei laterale: fitol, pentru vitamina K₁ (de unde și denumirea de filochinonă) și, respectiv, difarnesil pentru vitamina K₂ (farnochinonă).

2.4.5.1. Absorbția intestinală a vitaminelor K

Asigurarea condițiilor optime de absorbție a vitaminelor K se realizează în prezența bilei și a sucului pancreatic. Filochinona este absorbită, în cea mai mare parte, în porțiunea proximală a intestinului subțire și mai puțin în zona sa distală, printr-un mecanism de transport activ, cu consum de energie.

Ca și în cazul celorlalte vitamine liposolubile, gradul de absorbție intestinală mai este influențat și de alți factori. De exemplu, pH-ul ușor acid favorizează absorbția, în timp ce un conținut crescut în acizi grași nesaturați cu catenă mare au o influență inversă.

După absorbție, vitamina K₁ este încorporată în chilomicroni, apoi transferată pe β -lipoproteine în timpul transportului pe cale limfatică. Studii pe vitamina K₁ marcată cu izotopi radioactivi au arătat că, la om, după 20 de minute de la ingestie, vitamina marcată apare deja în plasmă, absorbția maximă având loc între a doua și a patra oră cu o scădere exponențială până la 72 de ore. Vitaminele sintetice K₃₋₇, hidrosolubile, sunt ușor absorbite mai ales la nivelul colonului, după care sunt transportate în ficat prin vena portă.

2.4.5.2. Degradarea hepatică a vitaminelor K

După absorbție, vitaminele K se acumulează, în principal, în ficat și, în măsură mai mică, în mușchi, oase și piele, concentrația vitaminei circulante fiind de 0,10 – 0,60 ng/ml plasmă. În țesutul hepatic, vitaminele K sunt metabolizate începând cu catena laterală, iar când aceasta ajunge la 5 atomi de carbon trec în formele lor lactonice după care formează glicoconjugați. S-a demonstrat faptul că forma lactonică este metabolitul comun al filochinonei și menachinonei.

Stocarea în organism (la nivelul țesutului hepatic) este reglată în așa fel încât rezervele acumulate asigură necesarul organismului pentru aproximativ 8 zile. După acest interval de timp, orice dereglare a aportului endogen sau exogen declanșează carența vitaminică.

Între 5–25% din vitamina K metabolizată în ficat se elimină prin bilă, fiind regăsită în fecale. O cantitate importantă se elimină pe cale renală. De altfel, din cantitatea totală de vitamină K eliminată de organismul uman, 50% se elimină prin urină și 50% prin fecale. În acest din urmă caz, 20%

reprezintă vitamina neabsorbită și 30% cea absorbită la nivel intestinal, metabolizată în ficat și eliminată prin bilă în fecale.

2.4.6. Rolul biologic al vitaminelor K

Principala funcție a vitaminelor K pentru animale și om o constituie participarea în procesul coagulării sanguine, din care cauză această vitamină a primit numele de **factor de coagulare** sau **factor antihemoragic**. Mai exact, există patru factori implicați în coagularea sanguină care sunt vitamină K dependenți:

- factorul II sau protrombina;
- factorul VII sau proconvertina;
- factorul IX sau factorul antihemofilic B;
- factorul X sau factorul Stuart.

Vitamina K mai este însă implicată și în alte procese biochimice și fiziologice din organism cum ar fi oxidoreducerile celulare sau diferite procese ce au loc în metabolismul osos. De asemenea, vitamina K reprezintă cofactorul unei *carboxilaze* microsomale.

Carboxilazele sunt enzime localizate preponderent în ficat, dar se mai întâlnesc în plămâni, splină, rinichi, oase, placentă și piele. Printre altele, aceste enzime sunt esențiale pentru funcționarea normală a peste 20 de proteine ce pot fi clasificate în trei grupe:

- proteinele ce interacționează cu unele fosfolipide formând factori ai coagulării și ai inhibiției coagulării;
- unele calciu-proteine (osteocalcina din plasmă și oase, aterocalcina tisulară și unele proteine întâlnite în calculii renali);
- o grupă de proteine mai puțin studiate care cuprinde, de exemplu, proteina Z prezentă în spermă și plasma sanguină.

În privința mecanismului de acțiune al *carboxilazei* dependente de vitamina K, se pare că aceasta determină γ -carboxilarea unor resturi de acid glutamic (Glu) din proteinele enumerate mai sus care devin resturi de acid γ -carboxiglutamic (Gla). Acesta este un aminoacid capabil să fixeze calciul, mărind eficacitatea biologică a proteinelor care îl conțin.

2.4.6.1. Rolul vitaminelor K în coagularea sângelui

Hemostaza este un proces opus hemoragiei care se realizează *in vivo* ca un proces de apărare. Ea poate fi primară, când se realizează sub acțiunea factorilor vasculari și plachetari și coagulare propriu-zisă realizată sub

acțiunea factorilor plasmatici. Hemostaza se realizează prin formarea unei pelicule de fibrină care acoperă endoteliul vascular.

Procesul începe sub acțiunea unui factor ce declanșează o multitudine de transformări enzimatică al căror efect final îl reprezintă formarea trombinei ce transformă fibrinogenul în fibrină.

Moleculele de fibrină polimerizează apoi cu formarea unei rețele organizate care își capătă proprietățile sale definitive după acțiunea unui factor stabilizator.

Procesul coagulării sanguine este un proces biochimic și fiziologic complex ce a fost reprezentat schematic de către *Munnich et al.* în 1987 (*Munnich et al., 1987*) (fig. 2.8).

Procesul de coagulare sanguină decurge în două etape principale: formarea fibrinei și, respectiv, formarea trombinei, această a doua etapă fiind modulată de inhibitori specifici.

a. Formarea fibrinei

Trombina este o enzimă proteolitică ce catalizează transformarea fibrinogenului solubil în monomeri de fibrină. Polimerizarea acestora sub influența factorului XIII conduce la formarea cheagului de sânge în două etape: formarea fibrinei solubile (S) și, apoi, a fibrinei insolubile (I).

b. Formarea trombinei

Sub acțiunea protrombinazei are loc o scindare proteolitică a protrombinei cu formarea trombinei active. *Protrombinaza* este un complex enzimatic format prin asocierea în jurul unui miceliu fosfolipidic, prin intermediul ionilor de calciu, a factorului V și a factorului X activat (fig. 2.9). Activitatea enzimatică a acestui complex se dezvoltă prin fixarea factorului Xa de fosfolipide cu ajutorul ionilor de calciu.

Factorul V are rolul de a accelera procesul de activare a protrombinei. Anterior acestui proces, are loc activarea factorului X care se realizează *in vitro* pe două căi diferite în funcție de mecanismul ce declanșează coagularea:

- **Calea extrinsecă:** factorul X este activat (Xa) de către tromboplastina tisulară și factorul VII în prezența ionilor de calciu.

- **Calea intrinsecă:** factorul X este activat de către produsul interacțiunii factorilor VIII și IX cu fosfolipidele în prezența ionilor de calciu. Activarea factorului IX are loc în prezența calciului prin acțiunea proteolitică a sistemului de contact ce ia naștere prin interacțiunea factorilor XI și XII. Acesta din urmă este activat, la rândul său, în prezența prekalicreinei și kininogenului cu masă moleculară mare și nu necesită prezența calciului. Această schemă a coagulării sanguine este mult

simplificată. Ansamblul fenomenelor ce au loc *in vivo* sunt în strânsă interdependență cu mecanismele interacțiunii celulare, cu elementele figurate ale sângelui, în special la nivelul plachetelor și țesutului conjunctiv perivascular (fig. 2.10).

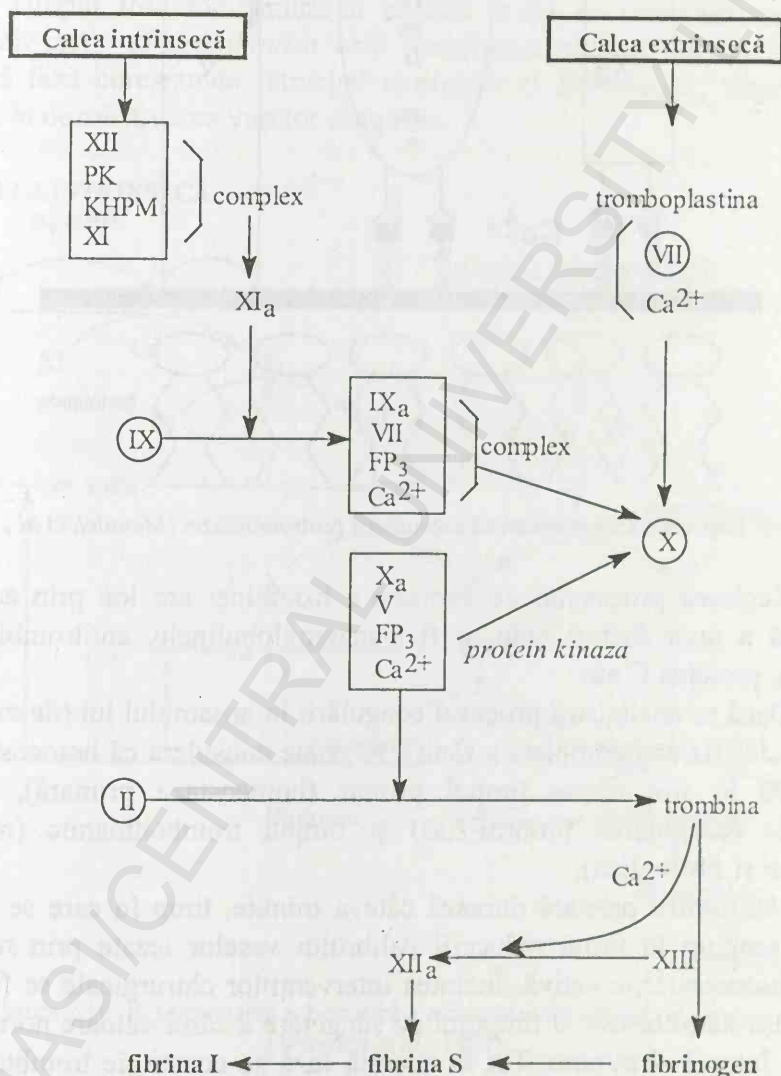


Figura 2.8. Reprezentarea schematică a procesului coagulării sanguine (Munnich et al., 1987).

FP₃ – fosfolipide plachetare; PK – prekalicreină; KHPM – kininogen cu masă moleculară mare; IX_a; X_a; XI_a – factorii IX, X și, respectiv, XI activați. (Factorii încercuiți sunt cei care necesită intervenția vitaminei K).

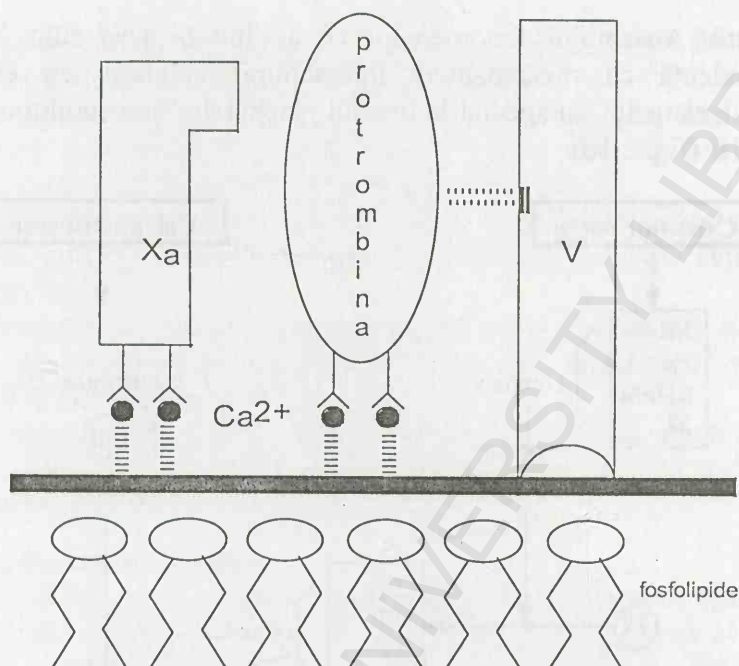


Figura 2.9. Reprezentarea schematică a structurii protrombinazei (Munnich et al., 1987).

Reglarea procesului de formare a trombinei are loc prin acțiunea inhibantă a unor factori cum ar fi α -macroglobulinele, antitrombina III, heparina, proteina C etc.

Dacă se analizează procesul coagulării în ansamblul lui (de exemplu până la cicatrizarea completă a răni), se poate considera că homeostaza se realizează în trei etape: timpul primar (homeostaza primară), timpul plasmatic (coagularea propriu-zisă) și timpul trombodinamic (retracția cheagului și fibrinoliza).

Hemostaza primară durează câteva minute, timp în care se reduce debitul sanguin în urma reducerii calibrului vaselor lezate prin retracție și/sau vasoconstricție activă. Înaintea intervențiilor chirurgicale se face, de regulă, așa numitul test al timpului de sângerare a cărui valoare normală se situează între 2–4 minute. Tot în această fază se constituie trombusul alb prin adeziune și agregare plachetară.

Coagularea propriu-zisă reprezintă homeostaza definitivă, permanentă. Formarea cheagului se realizează conform schemei simplificate de mai sus sub acțiunea următorilor factori: fibrinogenul (factorul I), protrombina (factorul II), tromboplastina tisulară (factorul III), calciul ionic (factorul IV),

proaccelerina (factorul V), accelerina (factorul VI), proconvertina (factorul VII), globulina antihemolitică A (factorul VIII), factorul Christmas (sau factorul IX), factorul Hageman (sau factorul XII) și factorul fibrinostabilizant (sau factorul XIII).

Timpul trombotic: în această etapă se formează complexul enzimatic activ *protrombinaza* care transformă protrombina în trombină. Această fază corespunde retracției cheagului și fibrinolizei, fenomene ce conduc la dezobstruarea vaselor sanguine.

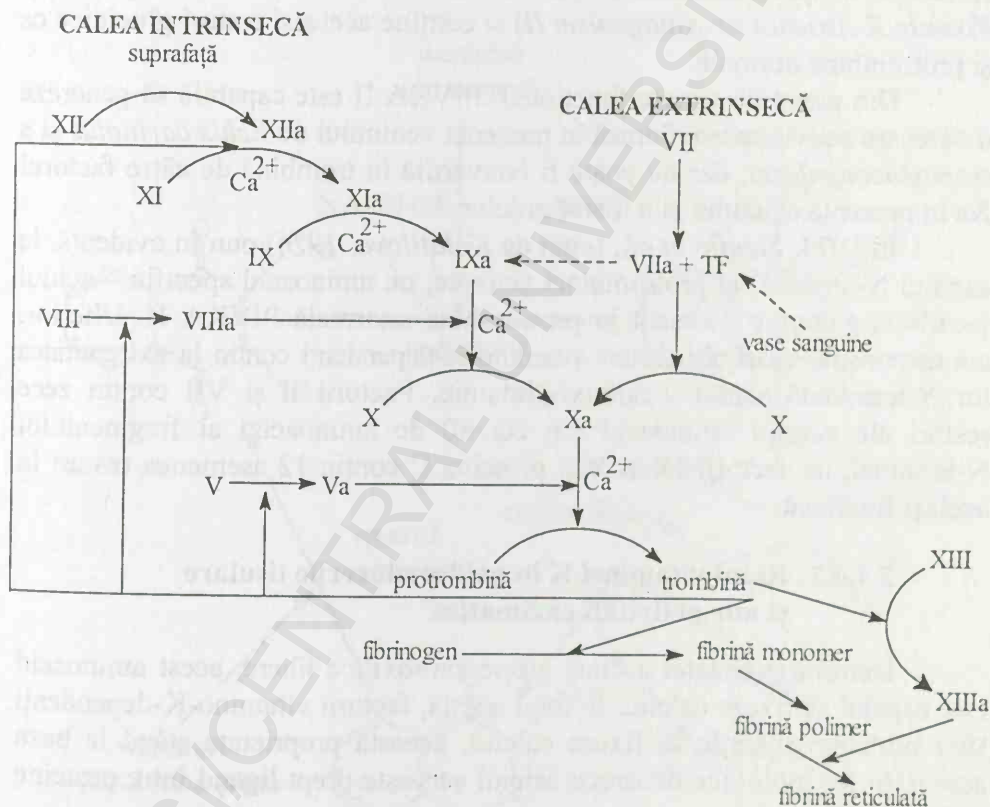


Figura 2.10. Reprezentarea schematică a mecanismului coagulării sanguine (Munnich et al., 1987).

Mecanismul de acțiune al vitaminei K asupra factorilor coagulării sanguine

Vitamina K intervine în activarea a cel puțin 6 factori ai coagulării sanguine: II, VII, IX, X, proteina C și proteina S. Proteina C este o proteină plasmatică recent descoperită al cărei rol constă în neutralizarea factorilor V

și VII activați. Activarea proteinei C se face, la rândul ei, sub acțiunea altei proteine plasmatice notate cu S.

Proteinele C și S sunt deci implicate în procesul de formare a trombinei care constituie enzima esențială a procesului de coagulare.

În 1968, *Josso* și *Ganrot* au demonstrat, separat unul de celălalt, existența unei protrombine anormale în plasma pacienților supuși unui tratament cu warfarină, un anticoagulat antagonist vitaminei K. Această protrombină anormală, lipsită de activitate coagulantă și recunoscută de anticorpii antiprotrombinici a fost numită PIVKA II (*Protein induced by Vitamin K Absence or Antagonism II*) și conține aceleași resturi glucidice ca și protrombina normală.

Din punct de vedere funcțional, PIVKA II este capabilă să genereze o oarecare activitate trombinică în prezența veninului de *Echis carinatus* și a *staphylocoagulazei*, dar nu poate fi convertită în trombină de către factorul Xa în prezența calciului și a fosfolipidelor.

În 1974, *Stenflo et al.*, (citată de *Kolotilova, 1976*) pun în evidență, la capătul N-terminal al protrombinei activate, un aminoacid specific – acidul γ -carboxi-glutamic - absent în protrombina anormală PIVKA II. Ulterior, s-a demonstrat că și alți factori vitamino-K-dependenți conțin la extremitatea lor N-terminală acidul γ -carboxi-glutamic. Factorii II și VII conțin zece resturi ale acestui aminoacid din cei 40 de aminoacizi ai fragmentului N-terminal, iar factorii IX și X și proteina C conțin 12 asemenea resturi în același fragment.

2.4.6.2. Rolul vitaminei K în oxidoreducerile tisulare și alte activități enzimatice

Datorită prezenței a două grupe carboxilice libere, acest aminoacid este capabil să fixeze calciul. În felul acesta, factorii vitamino-K-dependenți sunt proteine capabile să fixeze calciul, această proprietate stând la baza activității lor biologice deoarece calciul servește drept ligand între proteine și fosfolipide.

Rolul biochimic al vitaminei K în formarea acidului γ -carboxi-glutamic din structura proteinelor coagulării a fost elucidat relativ recent și se presupune că această vitamină funcționează ca un cofactor al unei *carboxilaze* hepatice.

Vitamina K suferă o serie de modificări în cursul unui ciclu de carboxilare, ciclu ce are loc în trei etape:

a) reducerea vitaminei K în prezența NADH;

b) epoxidarea vitaminei K într-o reacție conjugată cu carboxilarea glutamatului;

c) reducerea 2,3-epoxi-vitaminei K.

Aceste transformări enzimatice au loc în hepatocite în faza posttranslațională a biosintezei proteinelor vitamino-K-dependente, în momentul în care se formează punțile disulfurice și se realizează glicozilarea. Ele dau proteinelor coagulării proprietățile structurale și funcționale definitive. Warfarina inhibă unele etape ale acestui proces în concentrații diferite (fig. 2.11).

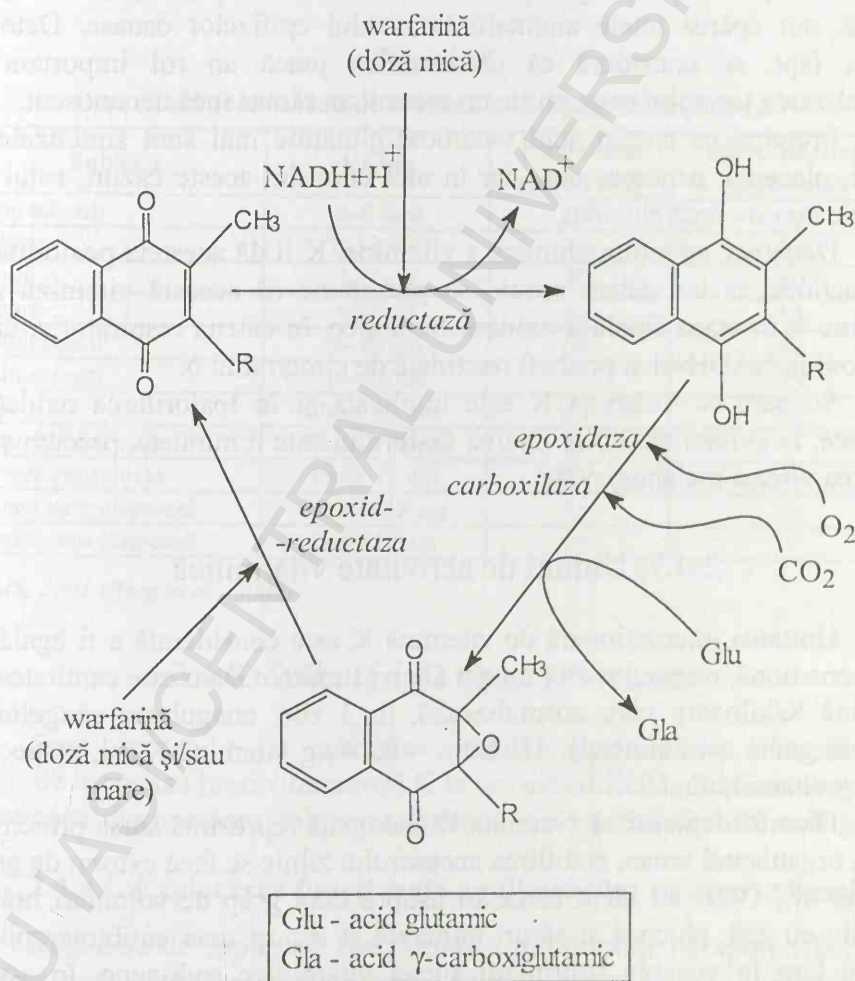


Figura 2.11. Schema implicării warfarinei în procesul coagulării sanguine (Kaushanski, 2006).

Mai există două proteine, notate M și Z, sintetizate probabil în ficat, ale căror secvențe de aminoacizi la extremitățile N-terminale sunt similare cu cele de protrombină. Aceste proteine sunt, de asemenea, vitamino-K-dependente, iar rolul lor biochimic rămâne încă neelucidat.

Carboxilaza vitamino-K-dependentă mai este prezentă și în alte țesuturi. Pe de altă parte, în țesutul osos a fost descoperită o altă proteină – osteocalcina – ce conține, de asemenea, acid γ -carboxi-glutamic (3 resturi Gla din totalul de 49 resturi de aminoacizi).

S-a observat că, la copiii nou născuți ale căror mame au făcut tratament cu diferiți antagoniști ai vitaminei K în primul trimestru de sarcină, pot apărea unele anomalii la nivelul epifizelor osoase. Datorită acestui fapt, se consideră că osteocalcina joacă un rol important în mineralizarea țesutului osos printr-un mecanism rămas încă necunoscut.

Proteine ce conțin acid γ -carboxi-glutamic mai sunt sintetizate în rinichi, placentă, pancreas etc., dar în nici unul din aceste cazuri, rolul lor biologic nu este încă elucidat.

Deoarece structura chimică a vitaminei K îi dă acesteia posibilitatea de a acționa ca un sistem redox, se presupune că această vitamină mai intervine și în etapa finală a oxidării biologice, în catena respiratorie, când poate oxida NADH-ul și poate fi reoxidată de citocromul b.

Se pare că vitamina K este implicată și în fosforilarea oxidativă deoarece, în avitaminoza K₁, fixarea fosforului este diminuată, precum și în scăderea vitezei melanogenezei.

2.4.7. Unități de activitate vitaminică

Unitatea internațională de vitamină K este considerată a fi egală cu 1 μ g menadionă, respectiv, 244 unități Dam (1 unitate Dam este cantitatea de vitamină K/kilocorp care normalizează, în 3 zile, coagularea sângelui la puiul de găină avitaminizat). 1U Dam = 0,14 μ g vitamină K₂ și, respectiv, 0,04 μ g vitamină K₃.

Datorită faptului că vitamina K endogenă reprezintă sursa principală pentru organismul uman, stabilirea necesarului zilnic se face extrem de greu. Frick et al., 1967, au făcut cercetări asupra unui grup de voluntari hrăniți exclusiv cu apă, glucoză și săruri minerale și supuși unei antibioterapii cu spectru larg în vederea suprimării sursei vitaminice endogene. În aceste condiții, necesarul zilnic de vitamină K a fost stabilit la 0,09–1,50 μ g/kilocorp pentru adulți.

În primele zile de viață, noul născut are nevoie de o cantitate foarte importantă de vitamină K deoarece nu posedă o floră intestinală capabilă să asigure sursa de vitamină endogenă.

De asemenea, tratamentul cu antibiotice, sulfamide, aspirină etc. cresc necesitățile zilnice de vitamină exogenă deoarece, în acest caz, scade mult biosinteza bacteriană de vitamină endogenă (Berg et al, 2002).

În fine, necesarul zilnic este în strânsă interdependență și cu temperatura mediului ambiant, fiind mult mai crescut în anotimpurile călduroase. În 2001, OMS a stabilit necesarul de vitamină K pentru diferite categorii de populație de ambele sexe (tab. 2.8).

Tabelul 2.8

Doza zilnică recomandată de vitamină K în funcție de vârstă și sex*

Subiecți	Vârsta	Fete/Femei ($\mu\text{g}/24$ ore)	Băieți/Bărbați ($\mu\text{g}/24$ ore)
Nou născuți	0–6 luni	2,0	2,0
Copii	7–12 luni	2,5	2,5
Copii	1–3 ani	30	30
Copii	4–8 ani	55	55
Adolescenți	9–13 ani	60	60
Adolescenți	14–18 ani	75	75
Adulți	Peste 19 ani	120	90
Femei însărcinate	Până la 18 ani	75	–
Femei însărcinate	Peste 19 ani	90	–
Femei care alăptează	Până la 18 ani	75	–
Femei care alăptează	Peste 19 ani	90	–

*OMS, 2001 (Berg et al., 2002)

2.4.8. Tulburări de aport vitaminic

Spre deosebire de celelalte vitamine liposolubile, identificarea stărilor de hipo- sau hipervitaminoză K la om este dificilă, dat fiind faptul că o mare parte din necesarul zilnic de vitamină K o reprezintă sursa endogenă.

2.4.8.1. Explorarea funcțională a tulburărilor de aport vitaminic

Metodele de explorare funcțională a tulburărilor de aport vitaminic se referă doar la determinarea stărilor de hipovitaminoză K, utilizându-se teste de explorare a homeostazei. În acest scop se folosesc două categorii de metode: teste de coagulare prin care se evaluează scăderea concentrației

factorilor vitamino-K-dependenți și, respectiv, caracterizarea precursorului plasmatic necarboxilat al protrombinei prin teste imunochimice.

a. Teste de coagulare

Pentru determinarea factorilor vitamino-dependenți ai coagulării, cel mai adesea se folosește determinarea așa numitului „timp Quick” (numit până nu demult timp de protrombină), care explorează specific factorii VII, X, V, II și fibrinogenul.

Testul constă în măsurarea timpului de coagulare a plasmei normale și a plasmei diluate (75%; 50%; 25% etc.). Valorile se exprimă, de regulă, în procente. Se mai utilizează trombotestul Owren care se aseamănă cu testul Quick, dar are proprietatea de a fi insensibil față de un eventual deficit al factorului V. În fine, mai este posibilă determinarea activității biologice specifice a fiecărui factor vitamino-dependent, valorile obținute fiind exprimate în procente din valoarea normală.

b. Caracterizarea precursorului necarboxilat al protrombinei (PIVKA II)

Acest factor se referă la precursorul protrombinei lipsit de acid γ -carboxi-glutamic. El nu apare în plasmă decât în insuficiența vitaminei K, ce se manifestă concomitent și cu diminuarea activității biochimice a protrombinei. Caracterizarea biologică a acestui precursor se face atât prin teste de coagulare cât și prin metode imunochimice.

– Teste de coagulare

Precursorul necarboxilat al protrombinei are proprietatea de a genera activitate trombinică în prezența unor substanțe cum ar fi veninul șarpelui *Eschis carinatus* sau *staphylocoagulaza*. Această proprietate stă la baza testelor clinice care sunt, în general, ușor de realizat în laboratoarele utilizate corespunzător.

– Teste imunochimice

Anticorpii antiprotrombinici au proprietatea de a recunoaște simultan protrombina activă și precursorul său necarboxilat. Aceste două molecule se pot separa prin metode imunoelectroforetice (de exemplu prin imunoelectroforeză bidimensională în tampon lactat de calciu-acid lactic) și evidențiate, sub forma a două spoturi, cu ajutorul anticorpilor antiprotrombinici.

Această metodă este foarte laborioasă și sensibilă, motiv pentru care nu poate fi aplicată decât în laboratoarele utilizate în mod corespunzător.

2.4.8.2. Hipovitaminoza K

Deficitul în vitamină K se manifestă clinic în mod diferit în funcție de amploarea carenței. Aceasta din urmă, la rândul ei, poate fi cauzată de mai mulți factori: aport alimentar scăzut, malabsorbție, anomalii genetice ale factorilor de coagulare vitamino-dependenți etc.

a. Carența cauzată de aportul scăzut de vitamină exogenă și malabsorbție

În carența severă, sindromul clinic cel mai caracteristic îl constituie sindromul hemoragic vitamino-dependent, diferit de alte modificări ale hemostazei. Efectul biologic constă în modificarea testelor hemostazei care interesează factorii vitamino-dependenți, scăderea concentrației sanguine a factorilor II, VII, IX, X, proteinei C și apariția în plasmă a precursorilor lor necarboxilați. Factorul V nu este afectat de carența vitaminei K. Vitamina K exogenă, precum și cea sintetizată de flora microbiană este absorbită în segmentul distal al intestinului subțire, absorbția fiind favorizată de prezența bilei.

Există trei cauze majore care pot conduce la instalarea stării de hiposau avitaminoză K:

- aport insuficient observat la omul adult în cazul tratamentelor prelungite cu antibiotice sau sulfamide și alimentație săracă în vitamină K, iar la noii născuți insuficienta dezvoltare a florei microbiene intestinale;
- absorbție defectuoasă observată în obstrucții și fistule biliare, malabsorbție (în rezecții intestinale, colită ulceroasă, ileită, enterocolită etc.);
- cauze toxice ce apar în cazul ingerării de antivitamine K, supradozării vitaminei A (datorită competiției hepatice) și tratament cu antibiotice cu spectru larg în asociație cu aport insuficient.

Cazul particular al hipovitaminozei nou născutului necesită o atenție deosebită datorită problemelor specifice pe care le pune. Nivelul factorilor vitamino-dependenți și ai vitaminei K la nou-născut reprezintă 40–50% din necesar la naștere din următoarele motive:

- rezervele limitate de vitamină K de origine maternă din cauza transportului transplacentar redus;
- insuficiența biosintezei proteinelor de origine hepatică (imaturitate hepatică);
- lipsa florei microbiene intestinale proprii în perioada neonatală.

În această perioadă, riscul carenței este foarte crescut și justifică suplimentarea sistematică cu vitamină K la toți nou-născuții.

b. Anomalii genetice ale factorilor de coagulare

Literatura de specialitate conține multe observații clinice de sindrom hemoragic caracterizat prin deficit de proteine din grupa protrombinei (factorii II, VII, IX, X) asociat cu prezența precursorilor necarboxilați, dar cu nivel sanguin normal al vitaminei K.

Studiul familiilor în care a fost descris acest sindrom a sugerat o transmitere genetică autosomală recesivă a acestei afecțiuni. Mecanismul molecular ce stă la baza acestui sindrom poate fi o mutație responsabilă de inactivarea sistemului enzimatic *carboxilază/epoxidază*.

În alt context, *Bertina*, 1981, descrie un caz de hemofilie B caracterizat prin prezența în sânge a unui precursor necarboxilat al factorului IX identic cu precursorul ce apare în carența vitaminică din punctul de vedere al faptului că nu poate fixa calciul ionizat, dar cu masă moleculară diferită. Este posibil ca o mutație la nivelul codonului non-sens să fie responsabilă de biosinteza unei molecule mai mari decât cea normală care o face nefuncțională prin imposibilitatea transformării resturilor de acid glutamic în acid γ -carboxi-glutamic.

c. Hipovitaminoza K în insuficiența hepatică

Insuficiența hepatică este asociată cu o diminuare a concentrației sanguine a proteinelor sintetizate în hepatocite, inclusiv a factorilor de coagulare vitamino-K-dependenți. Testele asupra coagulării (timpul Quick, dozarea biologică a protrombinei etc.) sunt modificate în aceeași manieră ca și în deficitul de vitamină K. Diferențierea insuficienței hepatice de carența vitaminică se face prin:

- refacerea testelor de hemostază după administrare parenterală de vitamină care corijează deficitul;

- dozarea factorului V care este normal în carența vitaminică și scăzut în insuficiența hepatică;

- dozarea protrombinei necarboxilate prin teste specifice care sunt pozitive în carență și, respectiv, negative în insuficiența hepatică.

2.4.8.3. Hipervitaminoza K

Pentru animale, vitaminele K_1 și K_2 nu au acțiune toxică nici în doze relativ mari. Pentru organismul uman, însă, administrarea intravenoasă rapidă a vitaminei K_1 este însoțită de reacții cutanate, dispnee, dureri toracice etc.

La nou născuți, vitaminele K sintetice sunt responsabile de anemie hemolitică severă, hiperbilirubinemie etc., datorită compensației între

bilirubină și vitamina K în procesul glucoconjugării hepatice. Aceste efecte sunt inexistente sau foarte mult atenuate dacă se administrează vitaminele K naturale.

La pacienți cu activitate scăzută a *glucozo-6-fosfatdehidrogenazei* (întâlnită în insuficiența biliară și în afecțiunile hepatice) și *glutation-reductazei* eritrocitare, vitaminele K sintetice provoacă hiperhemoliză, fiind contraindicate.

2.4.9. Grupe de risc

Comparativ cu alte vitamine, în cazul vitaminei K grupele de risc reprezintă categorii mai numeroase de populație, grupe ce cuprind indivizi de toate vârstele:

- prematuri;
- nou-născuți;
- sugari hrăniți exclusiv cu lapte matern;
- subiecți cu malabsorbție cauzată de diferite maladii digestive cronice;
- subiecți cu boli hepatice și pancreatice;
- persoane care, din diverse motive, sunt hrănite parenteral un interval de timp relativ îndelungat, fără adaus de vitamină K;
- purtători de diferite boli genetice;
- bolnavi tratați cu cefalosporine, alte vitamine liposolubile, anti-convulsive, aspirină, fier etc.;
- femei care alăptează și femeile în vârstă;
- parazitoze intestinale (ascaridoze).

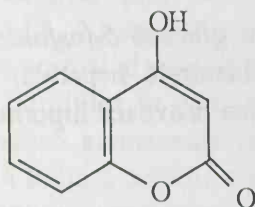
Dacă persoanele din grupele de risc de mai sus se află sub tratament și li se administrează vitamină K, este recomandată evitarea alimentelor foarte bogate în această vitamină pentru evitarea efectelor de hipervitaminoză.

2.4.10. Antivitamine K

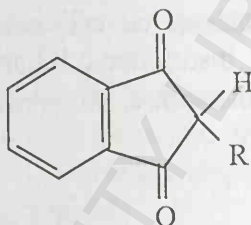
Primele substanțe descoperite ce provoacă simptomele avitaminozei K, fără a exista un deficit al acestei vitamine în organism, au fost dicumarolul și unii derivați ai acestuia.

Ațiunea acestor substanțe constă în scăderea concentrației sanguine și a activității biologice a factorilor de coagulare vitamino-dependenți și apariția precursorilor necarboxilați ai aceluiași factori. Ulterior, s-a demonstrat

faptul că toți antagoniștii vitaminei K derivă de la 4-hidroxicu-marină sau indan-1,3-dionă, având analogii structurale cu vitamina K:



4-hidroxicumarina



indan-1,3-diona

În principal, antagoniștii vitaminei K acționează la nivelul țesutului hepatic, asupra factorilor vitamino-dependenți. De exemplu, warfarina (cumadina) inhibă procesul carboxilării la nivelul resturilor de acid glutamic. În doze mici, ea inhibă procesul de epoxidare – reducere ce face ca vitamina K să rămână în forma sa oxidată. În doze mai mari inhibă *vitamina K - reductaza NAD(P)H - dependentă*.

În general, antagoniștii vitaminei K sunt administrați *per os*. Ei sunt absorbiți rapid și complet la nivel intestinal. După administrare de warfarină, maximul concentrației sale în sânge se observă după aproximativ 6 ore, forma circulantă fiind legată de proteine, în speță de albuminele serice.

Timpul de înjumătățire este diferit de la un medicament la altul, fiind cuprins între 2 ore în cazul etil-bis-cumacetatului (Tromexan) și 156 ore pentru fenprocuman (Marcoumar). Degradarea lor are loc în hepatocite, produșii de catabolism fiind eliminați prin urină sub formă de derivați hidroxilați solubili. Răspunsul la aceste medicamente este diferit de la un individ la altul (factori genetici), precum și la același individ, în funcție de starea sa fiziopatologică (hipersensibilitate, insuficiență hepatică, hipertiroidie etc.).

Numeroase medicamente pot modifica acest răspuns, fie multiplicând acțiunea acestor antagoniști (fenilbutazonă, clofibrat, steroizi anabolizanți, glucocorticoizi), fie diminuând-o (barbituricele, griseo-fulvina, rifampicina etc.).

Datorită acțiunii lor destul de puternice, antagoniștii vitaminei K prezintă numeroase contraindicații de administrare, cele mai importante fiind interdicțiile de administrare în anomalii congenitale ale hemostazei, insuficiență hepatică, ciroză hepatică, leziuni ale tubului digestiv, leziuni renale, antecedente vascular-cerebrale, retinopatii, hipertensiune arterială malignă, în primele 12 săptămâni de sarcină și după a 37-a săptămână,

perioada de alăptare, precum și în unele contexte psihiatrice și socio-economice care necesită o supraveghere medicală riguroasă.

Vitamina K injectabilă este incompatibilă cu fenitoina și clorhidratul de promazină cu care formează precipitate.

2.5. Vitamina F (acizi grași esențiali)

2.5.1. Generalități

Sub denumirea de „vitamina F” sunt reuniți acizii grași nesaturați esențiali. Pentru prima dată, boala de carență în grăsimi la animale de experiență a fost descrisă în 1929 de către Burr. Ulterior, s-a pus problema dacă acizii grași nesaturați sunt esențiali, iar în caz afirmativ, dacă aceștia joacă un rol vitaminic.

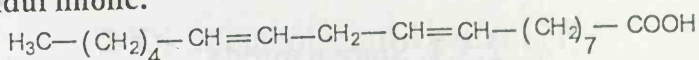
Lipsa acizilor grași nesaturați provoacă la om aceleași simptome ca cele observate la animalele de experiență, la copii simptomatologia fiind mai accentuată.

2.5.2. Structura chimică și proprietățile vitaminei F

Acizii grași esențiali grupați sub genericul de vitamină F sunt acizi grași cu diferite grade de nesaturare. În funcție de acest criteriu ei se clasifică astfel:

- a) acizi grași mononesaturați;
- b) acizi grași polinesaturați, care la rândul lor pot fi:
 - acizi grași cu două legături duble (de exemplu, acidul linolic);
 - acizi grași cu trei legături duble (de exemplu, acidul linolenic, acidul γ -linolenic și acidul homolinolenic);
 - acizi grași cu patru legături duble (de exemplu acidul arahidonic).

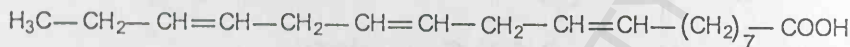
Acidul linolic:



Este cel mai răspândit acid dietetic. Sub formă pură este un lichid uleios, incolor, solubil în solvenți organici și soluții de baze, insolubil în apă. Cele două duble legături prezintă configurație *cis*. Prin oxidare în mediu de KMnO_4 formează acidul tetrahidroxi-stearic sau acidul sativinic.

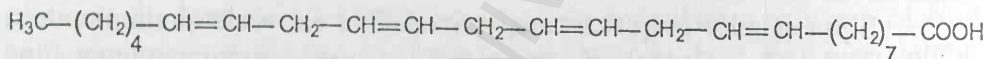
Structura sa (acid 9,12-dicis-octadecadienoic) a fost confirmată prin sinteză chimică care se realizează prin condensarea acetilurii monosodice cu 1,6-dibromhexanul. Produsul obținut este supus unei serii de reacții (bromurare, oxidare, reducere) formând în final acidul linolic, identic cu cel natural.

Acidul linolenic:



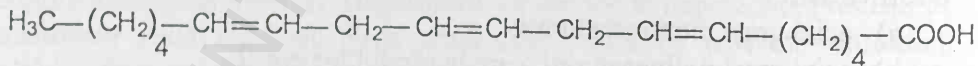
Este un lichid uleios, incolor, insolubil în apă, solubil în solvenți organici și etanol. La nivelul celor trei duble legături, configurația este de tip cis. Prin reducere formează acid stearic, iar la oxidare energetică dă aldehydă propionică, aldehydă malonică, acid malonic și acid azelaic.

Acidul arahidonic:

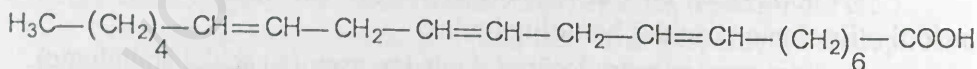


Este o substanță cristalină, insolubilă în apă, solubilă în solvenți organici și în soluții alcaline. Prin oxidare formează acizii acetic, caproic, succinic, malonic și glutaric. Acidul arahidonic natural se izolează din glandele suprarenale ale bovinelor. Există și preparate sintetice, obținute prin procese de sinteză chimică.

În grupa acizilor grași nesaturați cu activitate vitaminică F mai intră și **acidul γ -linolenic**, precum și **acidul homolinolenic**:



acid γ -linolenic



acid homolinolenic

2.5.3. Stare naturală

Acizii grași componenți ai vitaminei F se găsesc în natură atât în plante (acidul linoic și linolenic) cât și în țesuturile animale (acizii linolic, linolenic și arahidonic).

Tabelul 2.9

Conținutul în vitamină F al unor produse alimentare*

Nr. crt.	Sursa alimentară	g vitamină F / 100 g
1	Ulei de <i>Carthamus</i>	70 – 75
2	Ulei din sâmburi de struguri	65 – 70
3	Ulei de soia	60 – 65
4	Ulei din germeni de grâu	55 – 60
5	Ulei din germeni de porumb	55 – 60
6	Ulei de nuci	45 – 50
7	Ulei de susan	40 – 45
8	Ulei de floarea soarelui	35 – 40
9	Ulei de nuci de Brazilia	25 – 30
10	Ulei de rapiță	20 – 25
11	Grăsimi de găină	20 – 25
12	Ficat de morun	20 – 25
13	Grăsimi de curcă	10 – 15
14	Arahide, ulei de măsline	10 – 15
15	Făină de soia, ulei de migdale	8 – 12
16	Unt, ouă	1 – 2
17	Smântână	0,8 – 0,9
18	Migdale	0,3 – 0,5

* *L'Encyclopédie Médicale*, Paris, 2003.

Dintre alimentele de origine vegetală, cele mai bogate în vitamină F sunt uleiul de porumb și floarea soarelui, nucile, pâinea neagră și intermediară, arahidele etc. Alimentele de origine animală sunt mai sărace în vitamină F, cele mai bune surse fiind untul, osânza, măduva, peștele, laptele de vacă etc. Ponderele acizilor grași nesaturați esențiali (vitamina F) este foarte diferită în alimente, cele mai bune surse pentru om rămânând produsele vegetale (tabelul 2.9).

Prezența legăturilor duble în acizii grași esențiali face ca alimentele care conțin acești acizi să sufere unele transformări specifice în prezența oxigenului din aer – așa-numitul proces de rănecire.

2.5.4. Metabolismul vitaminei F

Acizii grași nesaturați sintetizați doar de către plante, ajung în organismul animal și uman o dată cu hrana.

În țesuturile vegetale, biosinteza *de novo* a acizilor grași cu catenă lungă are loc în citosol, procesul fiind catalizat de complexul enzimatic

numit *acid gras-sintetază* ce conține un număr de șapte enzime. Precursorul general al acestei căi anabolice este reprezentat de acetyl-CoA, iar fazele de reducere au loc în prezența NADPH.

Cercetări *in vivo* și *in vitro* au demonstrat faptul că legăturile duble se introduc numai dinspre gruparea carboxilică, într-o relație 1,4 a legăturii duble celei mai apropiate.

În țesuturile animale, acidul arahidonic se sintetizează într-un proces ce utilizează drept precursor acidul linolic exogen. Acizii linolic și linolenic nu sunt sintetizați în organismele mamiferelor ci doar în plante prin utilizarea în calitate de precursori a acidului oleic.

La nivel intestinal, absorbția vitaminei F se face prin același mecanism și urmează aceeași cale cu a grăsimilor. Procesul este facilitat de prezența bilei care emulsionează grăsimile, sub această formă ele fiind mai ușor scindate hidrolitic de către lipaza pancreatică.

Vitamina F este, de asemenea, emulsionată de către bilă, fiind transformată în complecși polienici hidrosolubili care se absorb ușor. După absorbție, prin circulația portă, acizii grași nesaturați ajung în ficat. La acest nivel are loc conversia parțială a acidului linolic în acid arahidonic. Tot aici are loc și biosinteza de fosfolipide, în special lecitine, care reprezintă forma circulantă a acestora în organism.

În sânge, după acțiunea hidrolitică a *lecitinazei* se eliberează acizii grași care esterifică imediat colesterolul. Sub formă de colesteride, acizii grași esențiali sunt transportați la nivelul organelor și țesuturilor.

Degradarea componentelor vitaminei F are loc, în principal, pe calea β -oxidării, iar o anumită cantitate este utilizată în formarea prostaglandinelor. Eliminarea din organism se face prin fecale, iar la femeile care alăptează, în principal prin glandele mamare, laptele uman conținând cantități mult mai mari de acizi grași nesaturați esențiali decât laptele celorlalte mamifere.

Datorită reactivității crescute, vitamina F intervine în diferite procese de oxidoreducere la nivel celular. Mai participă la structura membranelor mitocondriale și a enzimelor respiratorii. Experimente pe animale de laborator au demonstrat că vitamina F joacă un rol important în creșterea organismelor tinere, activitatea acizilor grași esențiali fiind diferită. De exemplu, acidul arahidonic este de șase ori mai activ decât acidul linolic, în timp ce activitatea acidului linolenic reprezintă doar jumătate din cea a acidului arahidonic.

În compoziția lipidelor din organismul animal, acizii grași nesaturați esențiali prezintă o pondere bine determinată, imprimându-le acestora o structură specifică care diferă de la o specie la alta sau de la un țesut la altul.

În 1960, s-a demonstrat că acidul arahidonic, sub influența omogenatelor de vezicule seminale de berbec, poate fi transformat în prostaglandine PGE_2 .

Ulterior, s-a clarificat mecanismul conversiei vitaminei F în prostaglandine, existând două căi metabolice distincte: calea endoperoxizilor și calea metabolică de tip lipoxigenazic. Transformările ce au loc sunt multiple, fiind catalizate de enzime specifice.

Când se utilizează în calitate de precursor acidul arahidonic de exemplu, acesta se transformă într-o primă fază în doi endoperoxizi instabili (PgG_2 și PgH_2) care trec rapid în prostaglandinele PGE_2 , PGF_2 și PGD_2 . Procesul biosintetic utilizează, în calitate de precursor, acidul arahidonic care se oxidează sub acțiunea catalitică a *ciclooxygenazei* când se formează PgG_2 și, în continuare, celelalte prostaglandine (fig. 2.12).

Denumirea de prostaglandine derivă de la cuvântul „prostată” deoarece au fost izolate prima dată din lichidul seminal în 1935 de către *Ulf von Euler* și, independent de acesta, de către *M. W. Goldblatt*. La timpul respectiv, cei doi cercetători au considerat că prostaglandinele sunt sintetizate în prostată. Mult mai târziu s-a demonstrat că acești compuși sunt secretați de către veziculele seminale și că există și alte țesuturi ce produc prostaglandine.

Din punct de vedere structural, prostaglandinele pot fi considerate a fi derivați ai acidului prostanoic cu 20 de atomi de carbon în moleculă ce conțin un nucleu ciclopentanic. Clasificarea prostaglandinelor se face în funcție de substituenții și de structura acestui nucleu (fig. 2.13).

La rândul lor, în fiecare din grupele de mai sus există mai mulți reprezentanți pentru nomenclatura acestora utilizându-se indicii care arată gradul de nesaturare al catenelor secundare. Intermediarii endoperoxidici determină agregarea ireversibilă a trombocitelor și contracția mușchilor netezi ai sistemelor respirator și vascular.

În endoteliul vascular, prostaglandinele PgG_2 și PgH_2 sunt transformate enzimatic sub acțiunea unei *oxiciclaze* specifice în PgX și PGL_2 sau prostaciclina care este instabilă și trece în 6-oxo- $\text{PGF}_{1\alpha}$. În calea metabolică de tip lipoxigenazic, acidul arahidonic trece în acid 12-L-hidroxi-eicosa-5,8,10,14-tetraenoic (HETE). Această cale metabolică nu

este inhibată de aspirină sau de către indometacin cum se întâmplă în calea endoperoxidazică.

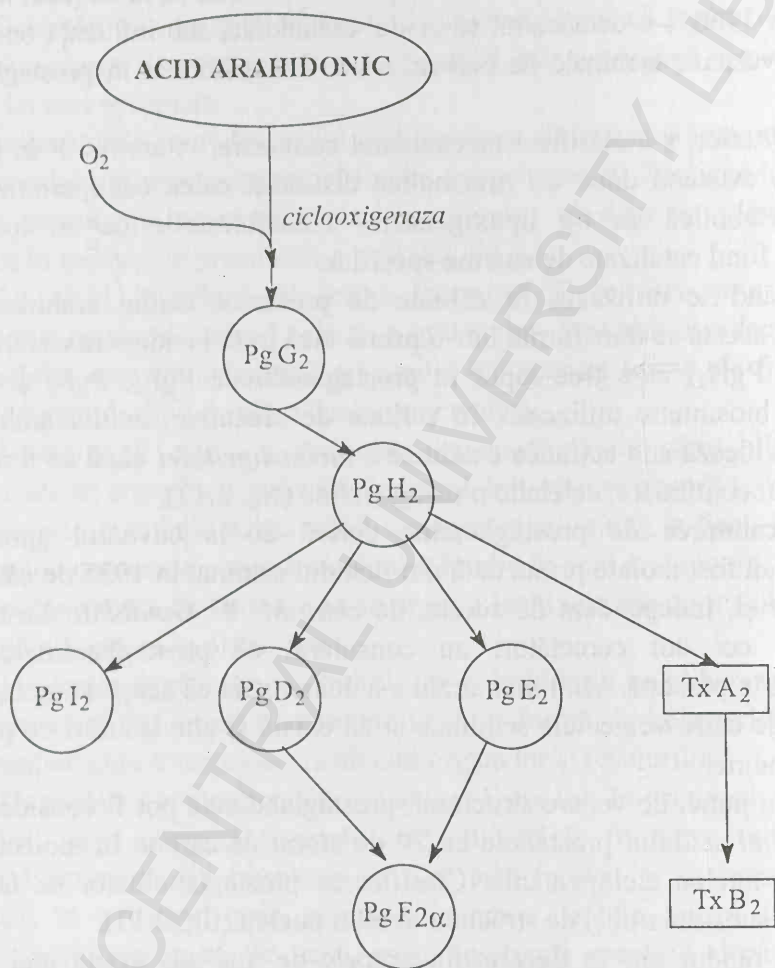


Figura 2.12. Reprezentarea schematică a conversiei acidului arahidonic în prostaglandine (Pg) și tromboxani (Tx) (Voet and Voet, 1990).

Până în prezent au fost izolate și caracterizate 16 prostaglandine clasificate în 6 grupe (E, A, B, F, C și D) în funcție de gruparea funcțională din nucleul ciclopentanic al moleculei. La acestea se mai adaugă un număr de prostaglandine obținute prin sinteză chimică.

Prostaglandinele îndeplinesc mai multe roluri în organism, fapt ce mărește considerabil aria funcțiilor biologice ale vitaminei F în calitate de

precursor al prostaglandinelor. Principalele funcții ale prostaglandinelor în organismul animal și uman sunt următoarele:

a. Acțiunea prostaglandinelor asupra sistemului nervos central

În funcționarea sistemului nervos central, prostaglandinele formează un flux aproape identic cu cel al catecolaminelor și indochilaminelor din structurile simpatice. Se pare că ele îndeplinesc rol de mediatori chimici la nivelul sinapselor din sistemul nervos central, fiind sintetizate sub acțiunea unor stimuli nervoși și apoi, după ce și-au îndeplinit rolul, se inactivează fie la nivel cerebral, fie la nivel medular sau chiar periferic.

S-a stabilit experimental că prostaglandinele serice E au efecte sedative, aceleași ca în cazul prostaglandinelor F, dar mult mai puternice. PGE_1 mai acționează asupra unui grup de neuroni din trunchiul cerebral, diminuând excitația de la centrii respiratori la cei cardioinhibitori și vasomotori.

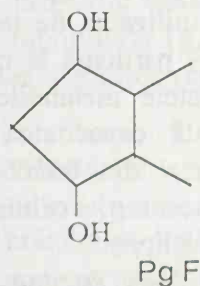
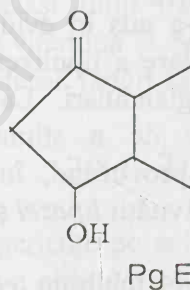
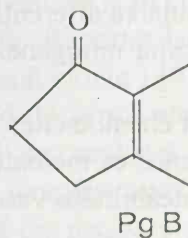
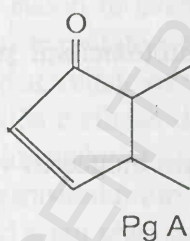
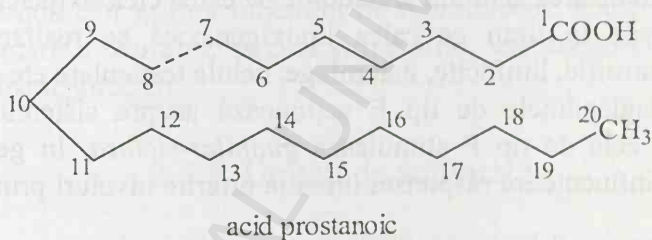


Figura 2.13. Clasificarea prostaglandinelor în funcție de structura nucleului ciclopentanic și natura substituenților (Voet and Voet, 1990).

S-a demonstrat că prostaglandinele au efecte și asupra inervației vegetative. Astfel, PgE_1 și PgE_2 sunt eliberate de diferite țesuturi ca răspuns la stimularea lor adrenergică, inhibând, în același timp, răspunsurile a numeroase țesuturi.

b. Acțiunea prostaglandinelor asupra sistemului gastro-intestinal

Constă în provocarea funcției motorii gastro-intestinale prin stimularea musculaturii netede.

c. Interrelația prostaglandinelor cu hormonii.

Se consideră că prostaglandinele au capacitatea de a potența hormonii hipotalamici și de a acționa direct la nivelul hipofizei prin intermediul unor receptori specifici prostaglandinici. Aceste funcții nu sunt, însă, pe deplin elucidate, mulți autori punându-le sub semnul întrebării.

d. Efectele prostaglandinelor asupra hematopoeziei

Metabolizarea acidului arahidonic pe calea ciclooxigenazei are loc în toate țesuturile în timp ce calea lipoxigenazică se realizează doar în plachete, neutrofile, limfocite, macrofage, celule testiculare etc.

Prostaglandinele de tip E acționează asupra sistemului *adenilat-ciclazei*, iar cele de tip F stimulează *guanilat-ciclaza*. În general, prostaglandinele influențează răspunsul imun la diferite niveluri prin următoarele mecanisme:

- stimularea diferențierii limfocitare;
- inhibiția mitogenezei limfocitare, a citotoxicității și producției de anticorpi;
- efect chemotactic;
- acțiunea ca mediator ai inflamației prin inducerea vasodilatației și creșterea permeabilității vasculare.

e. Rolul prostaglandinelor în reglarea lipolizei

Prin utilizarea de țesuturi adipoase, s-a pus în evidență faptul că PgE_2 și PgF_2 participă la mecanismul de reglare a lipolizei, prin care își exercită efectele metabolice unii hormoni glandulari. La baza acestui mecanism stă capacitatea prostaglandinelor de a stimula activitatea *adenilatciclazei* din membrana adipocitară, provocând, în felul acesta, creșterea concentrației celulare de cAMP, a activității *lipazei* și a *fosforilazei A* din țesutul adipos.

Cele două enzime acționează printr-o inhibiție competitivă cu hormonii lipolitici, printr-un mecanism de tip *feed-back* la nivelul sistemului *adenilatciclază-cAMP-fosfodiesterază*, localizat în membrana adipocitară.

f. Rolul prostaglandinelor în metabolismul glucidic și proteic

Experimentele efectuate pe animale de laborator au arătat că injectarea prostaglandinelor are efect hiperglicemiant, dar observațiile clinice au evidențiat faptul că, la om, acestea nu influențează insulinemia și deci, nici glicemia. În schimb, metabolismul proteic este influențat de prostaglandine în sensul activării de către acestea a procesului de biosinteză a proteinelor și acizilor nucleici. Datorită mării lor diversități funcționale, prostaglandinele se utilizează în terapia unor afecțiuni cum ar fi aritmiile cardiace, ateroscleroză, astmul bronșic, ulcerul gastric, glaucomul, disfuncțiile hepato-biliare, sindromul nefrotic, trombozele intravasculare, bolile autoimune, procesele inflamatorii, diabetul, obezitatea, unele boli neuropsihice, tulburări de reproducere, tumori maligne etc.

g. Alte funcții ale prostaglandinelor

Cercetările efectuate în ultimii ani au confirmat o serie de alte roluri ale prostaglandinelor asupra funcțiilor de reproducere: transportul spermei, retenția tubulară a ovulului, sarcina și travaliul, vasoconstricția cordonului ombilical, dismenoree etc.

2.5.5. Unități de activitate

Drept etalon în evaluarea activității vitaminei F se consideră acidul linolic a cărui activitate s-a fixat la 100 U.I./g. Raportat la acesta, acidul linolenic are o activitate de 9 U.I./g, iar acidul arahidonic 130 U.I./g.

Necesitățile zilnice de vitamină F depind de vârstă, starea fiziologică, compoziția alimentelor și alți factori. În general, se consideră că o dezvoltare normală a organismului din punct de vedere al funcțiilor acestei vitamine are loc atunci când acizii grași esențiali reprezintă 1% din necesarul de calorii.

În același timp trebuie să existe o proporție determinată între vitamina F și vitamina E. Se consideră normal raportul de 1g acid linolic la 0,5mg α -tocoferol, raport satisfăcut la majoritatea uleiurilor vegetale.

2.5.6. Tulburări de aport vitaminic

În experiențe pe animale de laborator hrănite cu dietă deficitară în vitamina F, s-a observat că principalele simptome carentiale sunt: încetarea creșterii puilor, necroze, leziuni renale, perturbarea funcției ovariene la femele și degenerarea testiculelor la masculi, modificarea hemoleuco-

gramei etc. Simptomele hipovitaminozei F la om sunt asemănătoare cu cele observate în experiențele pe animale.

Hipovitaminoza F se instalează la om în cazul lipsei din hrană a acizilor grași esențiali, în tulburările de absorbție intestinală, precum și în unele afecțiuni hepatice. Dacă ea intervine la femei în perioada de sarcină, nou-născuții prezintă o marcantă încetinire a creșterii, iar în hipovitaminoza avansată a mamelor, nou născuții prezintă o supraviețuire limitată.

Dacă hipovitaminoza intervine la sugari sau la copii mici, aceștia prezintă eczeme, căderea părului, încetinirea creșterii, anemie macrocitară, anemie hemolitică.

Dacă hipovitaminoza survine la adulți, ea determină modificarea tabloului sanguin, tulburări trofice ale pielii, disfuncții hepatice, ovariene și testiculare, leziuni renale, subțierea și căderea părului etc.

Din punct de vedere biochimic se observă o diminuare a intensității procesului de fosforilare oxidativă și o scădere a activității unor oxidoreductaze ca *glutamat-dehidrogenaza*, *succinat-dehidrogenaza*, *citocrom-oxidaza* etc. Influența carenței de vitamină F asupra aparatului sexual este destul de puternică. Ea poate determina anovulație sau ovulație neregulată, creșterea perioadei de gestație, lactație deficitară etc., respectiv, atrofie testiculară cu azoospermie datorită degenerării celulelor germinative.

Carența vitaminei F mai produce tulburări gastrointestinale cu hepatosteatoză, degradarea cartilajelor și fragilitatea capilarelor. Carența îndelungată poate conduce la ateroscleroză, formarea de depozite de colesterol pe pereții vaselor sanguine, flebite, infarct de miocard, afecțiuni hepatice și nervoase, scăderea capacității antitoxice a ficatului, modificarea permeabilității membranelor celulare etc.

3. VITAMINELE HIDROSOLUBILE

Dacă mecanismele moleculare de acțiune ale vitaminelor liposolubile rămân în mare parte incomplet elucidate, pentru vitaminele hidrosolubile aceste aspecte sunt mai clare. Cu excepția acidului ascorbic, a cărui mecanism de acțiune nu este de tip coenzimatic, celelalte vitamine hidrosolubile intră în structura multor enzime sub formă de coenzime.

În afară de rolul coenzimatic jucat, de obicei, de unii derivați ai vitaminelor hidrosolubile, acestea mai îndeplinesc în organismul animal și uman și alte funcții. Studiul vitaminelor hidrosolubile a contribuit la clarificarea multor etape ale metabolismului substanțelor, dat fiind faptul că actul catalitic propriu-zis este asigurat de coenzime ce intră, de regulă, în constituția situsului activ, apoenzima având rol preponderent în manifestarea specificității de acțiune.

3.1. Vitamina B₁ (tiamina, aneurina, vitamina anti-beri-berică, vitamina antinevritică)

3.1.1. Generalități

Tiamina reprezintă una din primele vitamine studiate sub aspectul importanței sale în nutriție și a structurii chimice. Simptomele avitaminozei B₁ au fost cunoscute încă în ultimele decenii ale secolului XIX când s-a observat că folosirea orezului decorticat în hrana păsărilor și animalelor determină apariția polinevritei, cu simptome asemănătoare prezentate de pacienți cu beri-beri.

Acestea dispăreau după adăugarea tărâtelor în hrană. S-a presupus atunci că în procesul de măcinare ar avea loc înlăturarea mecanică a unui factor protector necesar neutralizării anumitor toxine din bobul de orez. La scurt timp, însă, sindromul beri-beri a fost catalogat ca fiind „o boală carențială”.

În perioada 1896 – 1897, *Eijkman* demonstrează că factorul antiberiberi se află în coaja bobului de orez, iar zece mai târziu *Funk* obține pentru prima dată concentrate ale acestui factor din tărațe. Abia în 1926 s-au obținut preparate cristaline de tiamină, iar în 1935 – 1936 i s-a stabilit structura chimică. Acest principiu hidrosolubil, obținut sub formă de clorhidrat, a primit denumirea de vitamină B (*Kolotilova*, 1976).

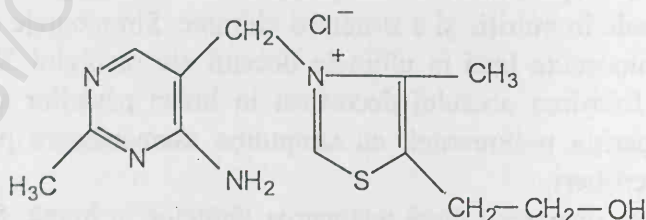
În urma cercetărilor efectuate de *Scindell* (SUA) și *Mandouin* (Franța), s-a stabilit că preparatele obținute din tărațele de cereale conțin o fracție termostabilă ce include riboflavină (vitamina B₂). Ulterior, s-a demonstrat că necesitățile organismului uman în aneurină pot fi satisfăcute doar printr-un aport cotidian de vitamină exogenă datorită faptului că tiamina nu are capacitatea de a se stoca în organism și nici nu este sintetizată de către flora microbiană din tractul intestinal (*Rindi*, 1996).

Rolul tiaminei în metabolismul glucidic și în utilizarea energetică a glucozei explică de ce hipo- și avitaminoza B₁ are repercusiuni rapide și severe asupra țesutului nervos al cărui metabolism este preponderent gluco-dependent.

Favorizând conversia glucidelor în energie, tiamina este absolut necesară funcționării normale a sistemului nervos și muscular, iar prin implicarea sa (sub formă de tiamin-pirofosfat) în decarboxilarea oxidativă a acidului piruvic, protejează sistemul nervos de acțiunea toxică a acestui metabolit intermediar al catabolismului glucozei.

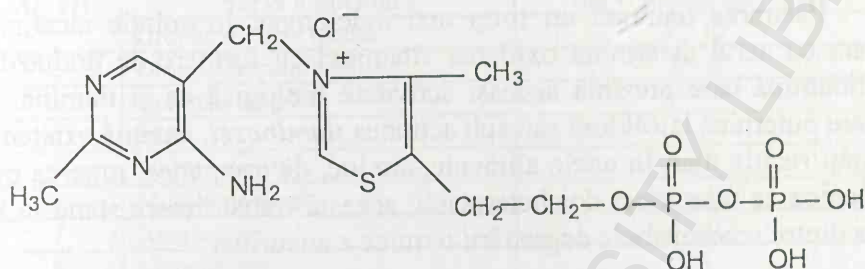
3.1.2. Structura chimică și proprietățile vitaminei B₁

Din punct de vedere structural, tiamina (C₁₂H₁₇N₄OS) este 3-(4'-amino-2'-metil-5'-pirimidinil-metil)-5-(β-hidroxietil)-4-metil-triazol:



Molecula tiaminei este formată dintr-un heterociclu pirimidinic și unul tiazolic, legate între ele printr-o punte metilenică. Heterociclu tiazolic conține un radical lateral metil și un radical hidroxietil a cărui grupare

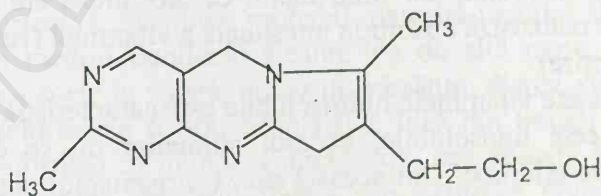
alcoolică poate fi esterificată cu pirofosfat când se formează tiaminpirofosfatul (TPP) cu rol coenzimatic:



Acesta mai este cunoscut și sub numele de cocarboxilază sau difosfotiamină. Clorhidratul de tiamină este o substanță cristalină, albă, cu miros caracteristic, ușor solubilă în apă, greu solubilă în alcool și insolubilă în solvenți organici.

În mediu slab acid, tiamina este relativ stabilă față de acțiunea oxidanților și temperatură, dar foarte instabilă în mediu neutru și alcalin. Obiceiurile culinare din Moldova sunt extrem de favorabile conservării vitaminei B₁ din legume prin fierberea acestora în borș de puțină (borșul are un pH relativ scăzut datorită conținutului în acid lactic).

Termostabilitatea tiaminei crește ușor în prezența vitaminei C, cisteinei, hidrochinonei și tioureei. Oxidarea tiaminei cu fericianură de potasiu în mediu alcalin are loc cu formarea tiocromului, substanță ce prezintă o fluorescență albastră, caracteristică, această reacție stând la baza unor metode fizico-chimice de dozare a vitaminei B₁ în produsele naturale și preparatele farmaceutice.



tiocrom

În soluție de acid clorhidric 0,1 N tiamina prezintă un optim de absorbție la 247 nm, această proprietate stând la baza metodelor colorimetrice de dozare.

Prin tratare cu nitriți și sulfiți, molecula tiaminei se distruge prin separarea celor doi heterocicli, iar cu acidul picric, acidul fosfotungstic și acidul tanic formează compuși insolubili.

Păstrarea tiaminei un timp mai îndelungat, în soluție alcalină, în contact cu aerul determină oxidarea vitaminei cu formare de tiodiazolonă sau tioamină care prezintă aceeași activitate biologică ca și tiamina. Prin oxidare puternică la căldură sau sub acțiunea *tiaminazei*, enzimă existentă în cantități relativ mari în unele alimente, are loc, de asemenea, ruperea punții metilenice ce unește cei doi heterocicli, această transformare stând la baza unuia dintre mecanismele degradării termice a aneurinei.

3.1.3. Stare naturală

Sursa principală de vitamină B₁ pentru organismul uman o constituie alimentele de origine vegetală și mai puțin cele de origine animală. Cantități mari de tiamină se găsesc în drojdia de bere (între 1 – 7 mg/100 g), apoi în cuticula boabelor de cereale (orez, grâu etc.), soia, pâinea intermediară și neagră etc. Deși conțin cantități mici de tiamină, alimentele de origine animală reprezintă, totuși, o importantă sursă de vitamină B₁ pentru om.

Din această categorie de alimente, cea mai bună sursă o constituie carnea de porc, ficatul, rinichii, ouăle, laptele, peștele etc. În acest din urmă caz, trebuie menționat faptul că în carnea unor specii de pești există *tiaminaza* capabilă să distrugă vitamina B₁. Fructele și legumele verzi sunt, în general, sărace în tiamină, cu excepția unor leguminoase. Distrugerea cojii acestora le face și mai sărace prin antrenarea tiaminei cu apă în timpul spălării.

Tiamina mai poate fi sintetizată și de către unele bacterii intestinale la nivelul cecumului, dar aceasta este mai puțin importantă pentru necesitățile organismului, dat fiind faptul că biosinteza are loc în aval de zona în care se realizează absorbția intestinală a vitaminei (zona proximală a intestinului subțire).

Pentru toate vitaminele hidrosolubile este caracteristic faptul că, spre deosebire de cele liposolubile, excesul alimentar nu se depozitează în organism ci este eliminat. Din această cauză, organismul uman are nevoie, în permanență, de un anumit aport de vitamine hidrosolubile, cu atât mai mult cu cât acestea îndeplinesc și importante funcții coenzimatiche.

Din fericire, în ceea ce privește vitamina B₁, principalele alimente ce alcătuiesc în mod obișnuit dieta zilnică a omului, conțin cantități suficiente de tiamină (tabelul 3.1). Singura condiție a evitării hipo- și avitaminozei B₁ rămâne, pentru un organism normal, o dietă echilibrată în vitamine.

Tabelul 3.1

Conținutul în vitamină B₁ al unor produse alimentare*

Nr. crt.	Sursa alimentară	mg vitamină B ₁ /100 g
1	Drojdie de bere uscată	5 – 10
2	Drojdie de panificație	1 – 2
3	Germeți de grâu	1 – 1,5
4	Icre	1 – 1,2
5	Mazăre uscată	0,4 – 0,8
6	Mușchi de porc	0,6 – 0,7
7	Nuci, alune	0,4 – 0,5
8	Lințe uscată	0,4
9	Rinichi	0,3 – 0,4
10	Orez nedecorticat	0,3 – 0,4
11	Arahide	0,2 – 0,3
12	Pâine integrală	0,25
13	Stridii	0,25

* *L'Encyclopédie Médicale*, Paris, 2003.

3.1.4. Metabolismul tiaminei

3.1.4.1. Absorbția tiaminei

Absorbția intestinală a vitaminei B₁ este destul de limitată și se realizează cu precădere în duoden și zona proximală a intestinului subțire, printr-un mecanism de transport activ, contra gradientului de concentrație. Unii autori nu neglijează, însă, și existența unui transport pasiv, difuzional, ce are loc în cazul saturării transportorilor specifici în urma ingerării unor cantități mai mari de tiamină.

Viteza de absorbție maximă s-a evaluat a fi în jur de 8 – 15 mg/24 h. Alimentele favorizează absorbția, probabil, datorită faptului că tiamina este puțin stabilă în mediul duodenal alcalin. Pe de altă parte, ea este mult diminuată la persoanele în vârstă, în caz de vărsături, diaree, colite ulceroase, boli hepatice, aclorhidrie și boli neoplazice. Încă din timpul transportului, tiamina este fosforilată în mucoasa intestinală, sub această formă trece în sânge, iar aici are loc procesul invers sub acțiunea *tiaminfosfokinazei*. Tiamina liberă ajunge pe cale sanguină în ficat.

3.1.4.2. Fosforilarea tiaminei

Indiferent de forma sub care a fost ingerată, tiamina suferă un proces de fosforilare sub acțiunea *pirofosfatkinazei* cu formare de tiaminpirofosfat

(TPP) sau *cocarboxilază*. Acest proces se realizează în mare parte în ficat, deși enzima care catalizează reacția de fosforilare se întâlnește aproape în toate țesuturile.

Sub acțiunea catalitică a *tiaminpirofosfat:ATP-fosforil-transferazei*, cocarboxilaza poate fi transformată în tiamintrifosfat (TTP) cu ajutorul energiei și radicalului ortofosfat din ATP. Fiecare derivat fosforilat al tiaminei poate fi, la rândul lui, defosforilat sub acțiunea unor *fosfataze* specifice. Dacă TPP-ul joacă, în principal, rol enzymatic, TTP-ul îndeplinește mai ales funcția de neurotransmițător (fig. 3.1).

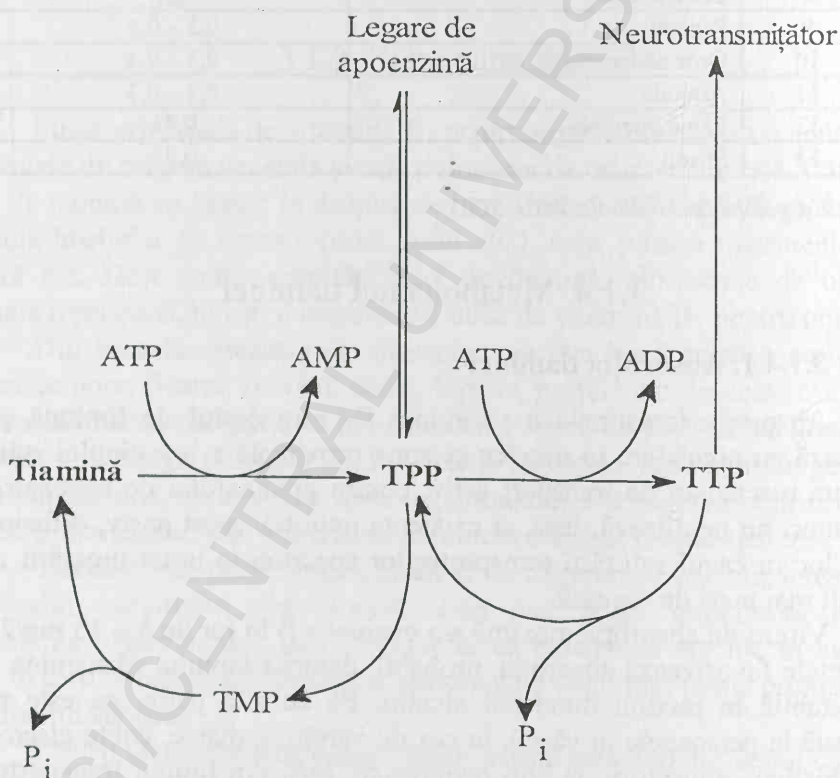


Figura 3.1. Conversia tiaminei în derivați fosforilați cu rol coenzimatic și neurotransmițător (Tanphaichitr, 1999).

Deși există numeroase informații privind distribuția derivaților tiaminei în diferite organe, rămâne deocamdată neclară explicația acestei distribuții în funcție de tipul țesutului sau chiar tipul celulei.

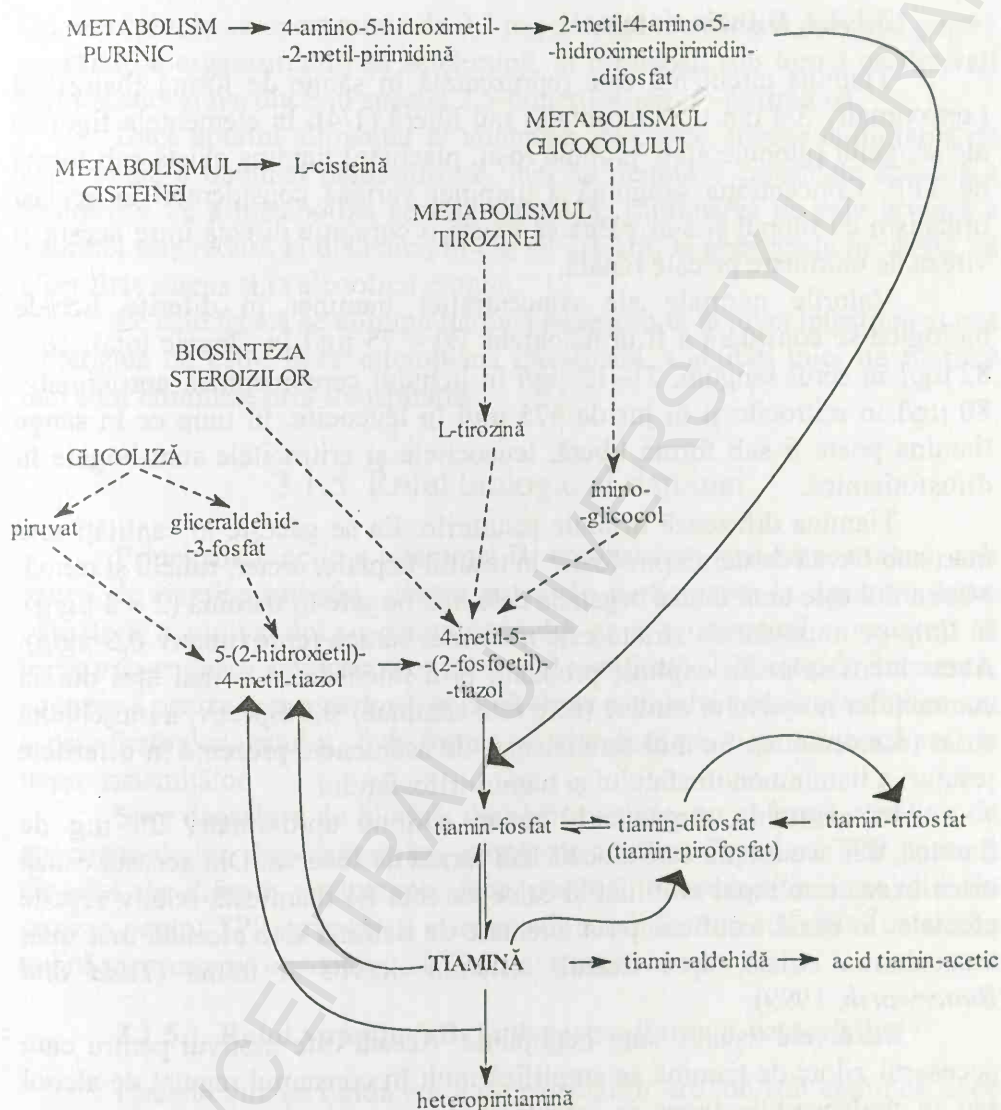


Figura 3.2. Interdependența căilor metabolice ale tiaminei cu metabolismul intermediar (Berg et al., 2002).

Fosforilarea tiaminei cu formare de tiamin-pirofosfat (TPP) și, respectiv, tiamin-trifosfat (TTP) se realizează prin reacții cuplate cu o multitudine de alte transformări ale metabolismului intermediar (fig. 3.2), fiind strâns legate de metabolismul unor aminoacizi (tirozină, glicocol, cisteină etc.), metabolismul bazelor azotate purinice, glicoliză, metabolismul steroizilor etc (Nishimune et al., 2000).

3.1.4.3. Difuzia tiaminei

Tiamina circulantă este reprezentată în sânge de forma fosforilată (aproximativ 3/4 din tiamina totală) sau liberă (1/4). În elementele figurate ale sângelui (globule albe, globule roșii, plachete) tiamina există sub formă de TPP. Concentrația sanguină a tiaminei variază considerabil la același organism cu timpul și s-ar părea că există o corelație directă între acesta și viteza de eliminare pe cale renală.

Valorile normale ale concentrației tiaminei în diferite lichide biologice se consideră a fi următoarele: 20 – 75 $\mu\text{g/l}$ în sângele total, 16 – 82 $\mu\text{g/l}$ în serul sanguin, 3 – 12 $\mu\text{g/l}$ în lichidul cerebrospinal, aproximativ 80 $\mu\text{g/l}$ în eritrocite și în jur de 675 $\mu\text{g/l}$ în leucocite. În timp ce în sânge tiamina poate fi sub formă liberă, leucocitele și eritrocitele sunt bogate în difosfotiamină.

Tiamina difuzează în toate țesuturile. Ea se găsește în cantități mai mari sub formă de tiaminpirofosfat în țesutul hepatic, creier, rinichi și inimă. Miocardul este unul dintre organele cele mai bogate în tiamină (2 – 3 $\mu\text{g/g}$), în timp ce musculatura striată este mult mai săracă (aproximativ 0,5 $\mu\text{g/g}$). Acest lucru se poate explica, probabil, prin intensitatea și mai ales durata contracțiilor mușchiului cardiac (care este continuă) și, respectiv, a mușchiului striat (discontinuu). Se mai semnalează, de asemenea, prezența în diferitele țesuturi a tiaminmonofosfatului și tiamin-trifosfatului.

În ansamblu, organismul uman conține aproximativ 25 mg de tiamină, dar aceasta nu este stocată sub formă de rezervă. Din această cauză orice exces este rapid eliminat și orice carență își manifestă relativ repede efectele. În cazul insuficienței alimentare de tiamină este afectată mai întâi musculatura striată, apoi ficatul, sistemul nervos și inima (*Todd and Butterworth, 1999*).

Rezervele tisulare sunt neglijabile. Acesta este motivul pentru care necesarul zilnic de tiamină se amplifică mult în consumul regulat de alcool sau în malabsorbție (cum se întâlnește de exemplu în diaree). În aceste situații se impune cu acuitate un aport sporit de tiamină pentru evitarea apariției hipovitaminozei.

3.1.4.4. Eliminarea tiaminei

După îndeplinirea funcției de cofactor al diferitelor enzime (de exemplu, *decarboxilaze*) sau a altor funcții, tiamina se elimină din organism preponderent pe cale renală, fie ca atare, fie sub forma unor metaboliți, raportul dintre aceste forme depinzând de aportul alimentar în vitamină B₁.

De exemplu, la un aport zilnic de 0,5 mg tiamină, considerat minimal pentru necesitățile organismului, ea se elimină, în principal, sub formă de derivați pirimidinici și tiazolici, în special 2,5-dimetil-4-amino-pirimidină.

Dacă aportul alimentar al vitaminei B₁ crește, începe eliminarea pe cale renală a tiaminei nemodificate, fapt ce denotă o capacitate scăzută a țesuturilor de a metaboliza această vitamină. Eliminarea pe cale urinară a tiaminei este redusă la diabetici, în caz de infecții, la persoanele în vârstă, în efort fizic intens și la alcoolicii cronici.

Pe cale fecală se elimină tiamina neabsorbită la nivel intestinal și cea sintetizată de către flora microbiană intestinală. Cantități mici de tiamină mai sunt eliminate prin transpirație.

3.1.5. Rolul biologic al tiaminei

Principală funcție a vitaminei B₁ o constituie cea de coenzimă, sub formă de tiaminpirofosfat, pentru enzimele participante la decarboxilarea oxidativă a piruvatului, α -cetoglutaratului și a α -cetoacizilor rezultați în urma transaminării aminoacizilor cu catenă ramificată. TPP este, de asemenea, coenzimă pentru *transcetolază*, enzimă cheie a ciclului pentozofosfaților sau a căii fosfogluconatului. Sub forma sa trifosforilată, tiamina joacă rol de neurotransmițător.

Spre deosebire de biotină, derivații tiaminei nu se leagă covalent de apoenzimele lor, deși sunt strâns atașate de acestea. Faptul că TPP poate fi disociat de diferite apoenzime, face posibilă o competiție între diferite enzime pentru TPP, precum și o eventuală modificare a activității catalitice o dată cu creșterea concentrației TPP sau a precursorilor săi.

3.1.5.1. Rolul vitaminei B₁ în decarboxilarea α -cetoacizilor

Decarboxilarea oxidativă a α -cetoacizilor are loc sub acțiunea unor complecși multienzimatici în structură cărora intră mai mulți cofactori. În cazul decarboxilării acidului piruvic cu formare de acetyl-CoA, reacția are loc în etape sub acțiunea complexului multienzimatic numit *piruvat-dehidrogenază*.

Acest complex este format din trei enzime și cinci coenzime (fig. 3.3) astfel:

a) E₁-*piruvat-dehidrogenaza* ce are drept cofactor tiaminpirofosfatul (TPP-E₁). Ea catalizează reacția de decarboxilare propriu-zisă a piruvatului cu eliberare de CO₂ și formare de aldehydă acetică activată (acetaldehydă-TPP).

b) E_2 -dihidrolipoat-transacetilaza ce catalizează transferul acetaldehidei de la TPP la acidul lipoic. În urma acestei reacții se regenerează piruvat-decarboxilaza (TPP- E_1) și se formează acidul acetildihidrolipoic. Imediat, sub acțiunea aceleiași enzime (E_2), restul acetil este transferat la coenzima A cu formare de acetyl-CoA, produsul final al transformării.

c) E_3 -lipoamid-dehidrogenaza ce catalizează reacția de oxidare a acidului lipoic în prezența FAD. Acesta, la rândul lui, se reoxidează în prezența NAD^+ .

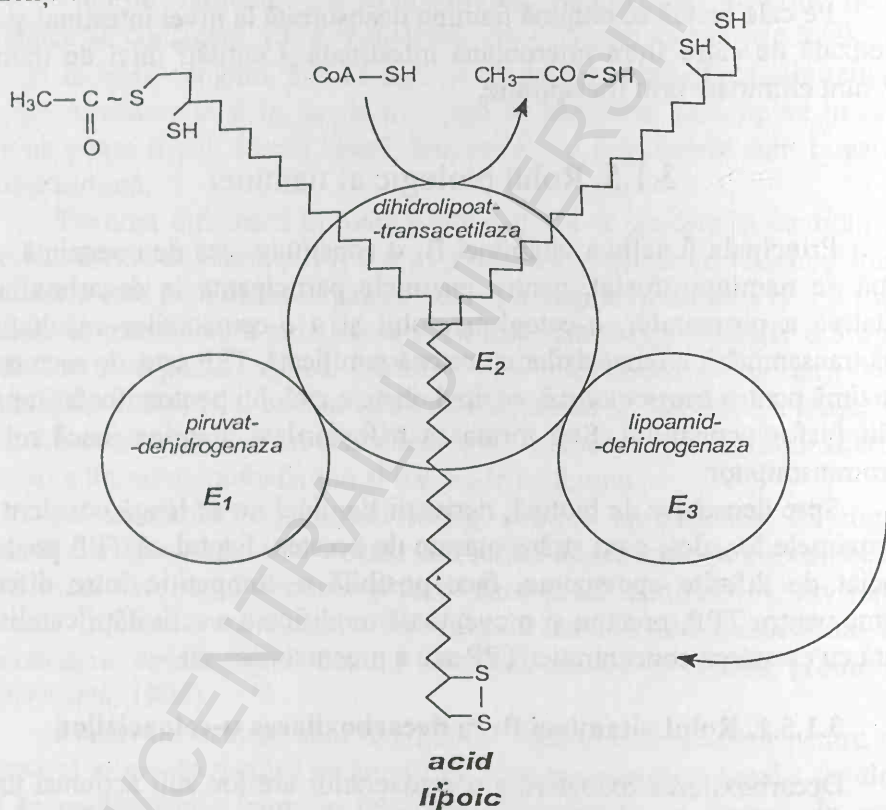
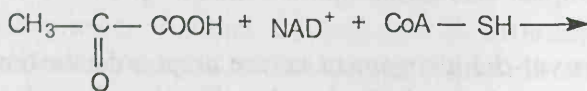
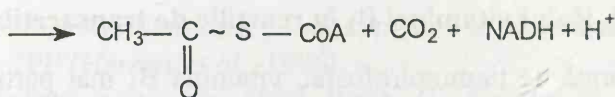


Figura 3.3. Schema complexului piruvat-dehidrogenazei mitocondriale (Metzler, 1977).

Transformările ce au loc pot fi reprezentate prin reacția globală:



piruvat



acetil — CoA

Pe etape, această transformare poate fi reprezentată ca în figura 3.4. Decarboxilarea oxidativă a acidului piruvic este o reacție cheie atât pentru metabolismul glucidelor cât și pentru întregul metabolism intermediar.

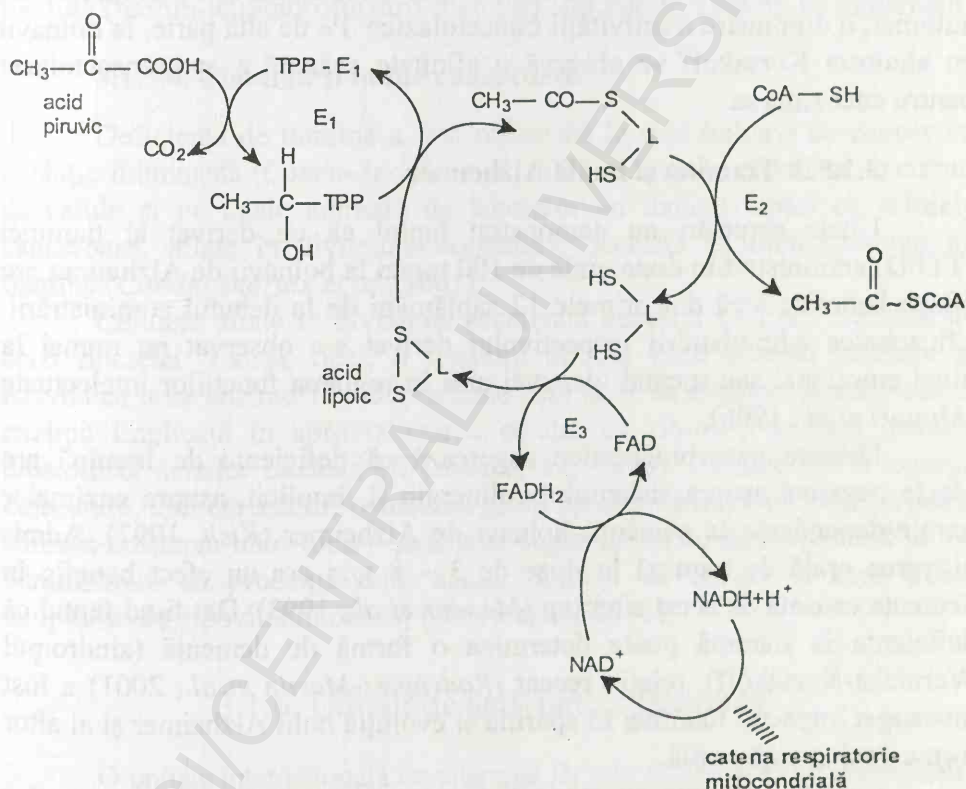


Figura 3.4. Reprezentarea schematică a decarboxilării oxidative a acidului piruvic (Lehninger, 1972).

Un complex multienzimatic, similar ca structură și mecanism de acțiune, catalizează decarboxilarea oxidativă a α -cetoglutaratului cu formare de succinil-CoA în ciclul acidizilor tricarboxilici. Tiaminpirofosfatul este, totodată, cofactorul decarboxilazelor α -cetoacizilor rezultați prin transaminarea leucinei, izoleucinei și valinei.

3.1.5.2. Rolul vitaminei B₁ în reacțiile de transacetilare

Sub formă de tiaminpirofosfat, vitamina B₁ mai participă și la alte etape ale catabolismului glucidic, jucând rol de coenzimă pentru *transcetolază*. Această enzimă localizată în citosol se întâlnește în ficat, inimă, rinichi, intestin, creier etc. Activitatea transcetolazică se mai întâlnește, de asemenea, în hematii.

Realizarea reacției necesită o etapă premergătoare în care TPP se leagă de apotranscetolaza inactivă în vederea formării complexului enzimatic activ. În cazul în care cantitatea de TPP este insuficientă se observă, în mod automat, o diminuare a activității transcetolazice. Pe de altă parte, la bolnavii cu sindrom Korsakoff se observă o afinitate scăzută a apotranscetolazei pentru coenzima sa.

3.1.5.3. Tiamina și boala Alzheimer

Unele cercetări au demonstrat faptul că un derivat al tiaminei (TTFD) administrat în doze orale de 100 mg/zi la bolnavii de Alzheimer are efecte benefice încă din primele 12 săptămâni de la debutul administrării. Eficacitatea administrării respectivului derivat s-a observat nu numai la nivel emoțional sau mental, dar mai ales în reglarea funcțiilor intelectuale (Mimori et al., 1996).

Diferite date biochimice sugerează că deficiența de tiamină are efecte negative asupra sistemului colinergic și, implicit, asupra enzimelor tiamin-dependente la pacienții bolnavi de Alzheimer (Kish, 1997). Administrarea orală de tiamină în doze de 3 – 8 g/zi are un efect benefic în demența cauzată de acest sindrom (Meador et al., 1993). Dat fiind faptul că deficiența în tiamină poate determina o formă de demență (sindromul Wernicke-Korsakoff), relativ recent (Rodriguez-Martin et al., 2001) a fost investigat impactul tiaminei în apariția și evoluția bolii Alzheimer și al altor forme de demență senilă.

Cercetări recente au evidențiat o activitate diminuată a enzimelor TPP-dependente (α -cetoglutarat dehidrogenaza și *transcetolaza*) în creierul pacienților care au murit datorită bolii Alzheimer, corelată cu scăderea în intensitate a metabolismului glucozei în creierul acestor subiecți (Rodriguez-Martin et al., 2001).

Identificarea, însă, în creier a unui nivel scăzut de tiamin-pirofosfat, dar a unor concentrații normale de tiamină liberă și tiamin-monofosfat, sugerează faptul că activitatea scăzută a enzimelor respective nu ar fi

rezultatul deficitului de tiamină ci, mai curând, s-ar datora unor deficiențe ale sintezei de TPP (Heroux et al., 1996).

Actualmente există doar slabe dovezi ale faptului că suplimentarea dietei cu vitamină B₁ ar aduce ameliorări în boala Alzheimer. Studii efectuate pe pacienți cu boala Alzheimer cărora li s-au administrat câte 3 grame de tiamină/zi timp de 12 luni nu au condus la rezultate concludente. În schimb s-a înregistrat o ușoară ameliorare în cazul administrării a 3 – 8 grame vitamină B₁ pe zi.

Același efect slab s-a constatat și la administrarea unui derivat de tiamină (tiamin-tetrahidrofurfuril-disulfid) 100 mg/zi, timp de 12 săptămâni.

3.1.5.4. Tiamina și bolile canceroase

Deficiența de tiamină a fost observată la unii bolnavi de cancer cu evoluție fulminantă (Comin-Anduix et al., 2001). Cercetări efectuate pe culturi de celule și pe unele animale de laborator au indicat faptul că celulele canceroase, aflate în diviziune accelerată, necesită cantități crescute de tiamină (Comin-Anduix et al., 2001).

Celulele aflate în diviziune accelerată necesită cantități crescute de acizi nucleici. Există, deci, o legătură directă între această realitate și activitatea unor enzime TPP-dependente cum ar fi de exemplu *transcetolaza*, enzima implicată în aprovizionarea celulei cu ribozo-5-fosfatul necesar biosintezei acizilor nucleici (Krishna et al., 1999). Plecând de la această constatare, unii cercetători consideră că un aport prea mare de tiamină poate stimula creșterea unor tumori maligne, sugerând ca această vitamină să fie administrată cu prudență doar acelor bolnavi de cancer la care există simptome de hipovitaminoză B₁ (Boros et al., 1998).

3.1.6. Unități de activitate vitaminică

O unitate internațională de vitamină B₁ este echivalentă cu aproximativ 3,8 μg tiamină. Determinarea necesarului zilnic se face extrem de dificil, acesta depinzând de regimul alimentar, vârstă, sex, starea fiziologică, temperatura mediului ambiant etc. Conform datelor FAO și OMS, aportul zilnic recomandat se fixează în funcție de conținutul energetic al alimentelor și se evaluează la 0,5 mg tiamină/1000 cal. Aceste valori sunt, însă, orientative din două motive principale:

a) absența stocării în organism, difuzia lentă în țesuturi și eliminarea rapidă a excesului de tiamină determină necesitatea unui aport zilnic mai

mare decât minimul necesar. În general, se consideră că o alimentație diversificată și echilibrată asigură aportul cotidian recomandat de comisia mixtă FAO-OMS.

b) multitudinea factorilor de care depinde necesarul zilnic determină, de asemenea, un aport diferit (tabelul 3.2). Tiamina nu provoacă simptomul de hipervitaminoză, orice exces administrat *per os* sau parenteral fiind eliminat pe cale renală.

Tabelul 3.2

Necesarul zilnic de vitamină B₁ în funcție de aportul caloric*

Vârsta (ani)	Calorii/zi/kg corp	Tiamină (mg/zi)
Nou-născuți		
0 – 3 luni	120	0,2
3 – 6 luni	100	0,4
6 luni – 1 an	1000	0,5
Copii		
1 – 2 ani	1150	0,6
2 – 3 ani	1300	0,6
3 – 4 ani	1450	0,7
4 – 6 ani	1700	0,8
6 – 8 ani	2100	1,0
8 – 10 ani	2500	1,1
Adolescenți		
Băieți 10 – 15 ani	3000	1,5
Fete 10 – 15 ani	2600	1,2
Tineri		
Băieți 16 – 19 ani	3600	1,5
Fete 16 – 19 ani	2400	1,2
Adulți		
Bărbați	3200	1,3
Femei	2300	1,0
Femei însărcinate	2500	1,3
Femei care alăptează	2500	1,7

* După Comitetul Mixt de Experți FAO-OMS, 1974 (citat de Kolotilova, 1976).

Deși nu s-au semnalat efecte toxice ale vitaminei B₁, chiar și în doze mari, pot să apară fenomene de sensibilitate individuală imprevizibile după administrarea parenterală.

Un alt caz deosebit îl constituie subiecții care din diferite motive sunt alimentați exclusiv pe cale parenterală la care aportul caloric este format exclusiv din dextroză.

Relativ recent (1998), Institutul de Medicină din Washington stabilește necesarul zilnic de tiamină în funcție de sex și vârstă, fără a lua în calcul aportul caloric al alimentelor ingerate (tabelul 3.3).

Tabelul 3.3

Doza zilnică recomandată de vitamină B₁ în funcție de vârstă și sex*

Subiecți	Vârsta	Fete/Femei (mg/24 ore)	Băieți/Bărbați (mg/24 ore)
Nou născuți	0–6 luni	0,2	0,2
Copii	7–12 luni	0,3	0,3
Copii	1–3 ani	0,5	0,5
Copii	4–8 ani	0,6	0,6
Adolescenți	9–13 ani	0,9	0,9
Adolescenți	14–18 ani	1,0	1,2
Adulți	Peste 19 ani	1,1	1,2
Femei însărcinate	Orice vârstă	1,4	—
Femei care alăptează	Orice vârstă	1,4	—

* *Institute of Medicine, Washington D.C., National Academy Press, 1998 (citat de Tanphaichitr, 1999).*

3.1.7. Tulburări de aport vitaminic

Rolul de coenzimă pe care vitamina B₁ îl joacă în multe reacții enzimatice determină principalele consecințe clinice și biologice ale carenței acestei vitamine. Sursa energetică principală pentru sistemul nervos central o constituie glucoza.

La nou-născuți metabolismul cerebral reprezintă aproximativ 65% din metabolismul bazal, acest proces diminuând cu vârsta până la 23% în cazul adultului. Dat fiind faptul că tiamina este implicată preponderent în metabolismul glucidic aerob și anaerob, sistemul nervos este cel mai vulnerabil la deficitul de tiamină.

Pe de altă parte, numeroase experimente și observații clinice par să nu ateste faptul că disfuncțiile neurologice observate în hipovitaminoza B₁ nu sunt determinate în mod direct numai de modificările activităților catalitice ale enzimelor TPP-dependente.

Este posibilă existența unui rol special și direct al tiaminei în funcționarea membranelor excitabile. Astfel, *Tillement* demonstrează în 1976 rolul de mediator al tiaminei nefosforilate la nivelul sistemului nervos parasimpatic. Ulterior, *Gibson* și *Plaitakis* (1982) (citad de *Voet and Voet*,

1990) arată că tiamina este implicată în biosinteza acetilcolinei și în fenomenul de transmitere neurală. Cu ajutorul tiaminei marcate radioactiv s-a demonstrat că TPP este implicat în generarea potențialului transmembrantar.

În condiții fiziologic normale, aproximativ 70% din energia necesară mușchiului cardiac provine din căile de degradare catabolică a acizilor grași și 30% provine din degradarea glucozei. Dar, după câteva secunde de efort fizic intens, 80% din energia consumată de miocard provine din glucoza circulantă și glicogen (*Leslie and Gheorghiade, 1996*).

Rezervele de glicogen cardiac fiind relativ mici după câteva minute de efort, raportul între oxidarea glucozei și a acizilor grași revine la valoarea de repaus. În aceste situații, piruvatul format în glicoliză este redus la acid lactic care trece în sânge și doar parțial este decarboxilat la acetil-CoA. O carență în TPP va avea urmări la nivelul oxidării glucozei (prin diminuarea activității complexului *piruvatdehidrogenazic*), dar și la nivelul oxidării acizilor grași (prin diminuarea activității ciclului Krebs). Toate aceste modificări biochimice vor avea repercusiuni clinice și la nivelul miocardului.

3.1.7.1. Cauzele carenței tiaminice

Carența de tiamină poate duce la numeroase probleme, incluzând neurodegenerarea și decesul. O lipsă de tiamină poate fi cauzată de malnutriție, o dietă cu mâncăruri bogate în *tiaminază* (pești de apă dulce cruzi, scoici crude, ferigi) și/sau mâncăruri bogate în factori anti-tiaminici (ceai, cafea, nuci Areca).

Deficiențe în aportul alimentar de vitamină B₁ se observă, de asemenea, și în cazul consumului uniform și de lungă durată a produselor alimentare rafinate (făină foarte albă, orez decorticat etc.) sau a unor alimente supuse unor condiții dure ale procesului culinar (sterilizarea fructelor, legumelor și cărnii în vederea preparării conservelor pentru iarnă, alimente stocate timp îndelungat, alimente preparate la temperaturi foarte înalte etc.). S-a constatat faptul că tratamentul prelungit cu furosemid este asociat cu pierderi urinare de tiamină și, implicit, cu carența tiaminică la pacienții care au o dietă săracă în această vitamină (*Rieck et al., 1999*).

În anul 2000, *Suter et al.*, studiind efectul terapiei diuretice asupra bolilor cardiace și, implicit, asupra hipertensiunii, au arătat că pacienții cu astfel de boli suferă de pierderi însemnate de tiamină pe cale renală. Administrarea unei doze suplimentare de tiamină ajută la prevenirea dezvoltării sindromului beri-beri la subiecții cu afecțiuni renale.

Carența secundară în tiamină se observă în perturbări ale absorbției intestinale (în diaree sau în infecții intestinale), în urma unor intervenții chirurgicale sau la utilizarea unor medicamente și pansamente gastrice. Toți factorii care măresc necesarul de vitamină B₁ pot contribui, în egală măsură, la instalarea unei carențe progresive, mai ales dacă sunt asociați cu unele cauze favorizante cum ar fi febra, hipertiroidia, alimentație parenterală prelungită prin perfuzie etc.

Carența vitaminică B₁ poate să apară și ca urmare a acțiunii unor factori ce accelerează eliminarea tiaminei din organism: diabet insipid, diabet zaharat, tratament diuretic prelungit etc. Din punct de vedere practic, carența vitaminei B₁, din motive alimentare, se întâlnește în țările subdezvoltate, în special din Asia de sud-est datorită consumului tradițional de orez decorticat, în timp ce în țările industrializate cauza o constituie alcoolismul cronic.

3.1.7.2. Simptomele clinice ale carenței în tiamină

Numeroase observații clinice, coroborate cu experiențele pe animale de laborator avitaminizate, au permis detectarea următoarelor categorii de simptome ale avitaminozei B₁:

- simptome generale: astenie, pierdere în greutate și anorexie, deranjamente gastrice;
- dereglări nervoase periferice: amiotrofie, dureri ale pulpei piciorului la palpare, parestezii și hipoestezii, diminuarea reflexelor osteotendinoase;
- tulburări psihice severe: stări depresive, iritabilitate, imposibilitatea concentrării atenției, tulburări de memorie.

Aceste observații sunt în conformitate cu simptomele de debut ale carenței: anorexie și vărsături, deteriorarea rapidă a stării generale, astenie. Abia apoi apar simptomele nervoase periferice, tahicardia, palpitațiile, dispneea etc. Afecțiunile caracteristice avitaminozei B₁ sunt sindromul Wernicke-Korsakoff și beri-beri.

S-a sugerat că sindromul Wernicke-Korsakoff este asociat cu o deficiență genetică a transcetolazei care necesită, implicit, concentrații mult mai mari decât în mod normal de tiamin-pirofosfat pentru activitatea sa. Aceasta ar sugera că o parte a populației ar avea nevoie de concentrații mult mai mari de tiamină decât nivelul mediu.

În ceea ce privește beri-beri, această boală prezintă o incidență relativ crescută în țările Asiei de sud-est. În alte regiuni ale planetei, se întâlnește așa-numitul „beri-beri occidental” datorat unei utilizări deficitare

a tiaminei în alcoolismul cronic. Boala se manifestă relativ diferit în funcție de vârstă.

a. Beri-beri la adulți și adolescenți

Avitaminoza B₁ debutează, din punct de vedere al simptomelor clinice, prin astenie, anorexie, senzații de greață, constipație etc. Tulburările neurologice de tipul depresiei, iritabilității, pierderea memoriei etc., sunt destul de frecvente (*Mastrogiacoma et al.*, 1996).

Dacă boala nu este diagnosticată în acest stadiu și nu se instituie vitaminoterapia, ea se agravează, instalându-se tabloul clinic ce se poate manifesta în trei forme diferite, în funcție de predominarea disfuncțiilor neurologice centrale, periferice și cardiace.

Forma seacă a bolii se caracterizează prin polinevrită care debutează prin greutate în mers și evoluează până la paralizie flască, predominant la nivelul membrelor inferioare și tulburări trofice musculare. Reflexele osteo-tendinoase sunt diminuate sau dispar complet.

Forma umedă se caracterizează prin afecțiuni cardiovasculare: miocardită asociată cu tahicardie, dispnee la efort, palpitații și dureri precordiale. Cordul este mărit în volum și pot exista simptome periferice de sincopă cardiacă dreaptă și edeme ce sunt total rezistente la tratamentul cu cardiotonice și nu răspund decât la vitaminoterapie. Electrocardiograma poate evidenția o aplatizare sau o inversiune a undelor T cu creșterea spațiului QT. Toate acestea pot provoca deseori moarte subită.

Așa-numitul beri-beri cerebral este reprezentat de encefalopatia Gazet-Wernicke. Incidența acestuia a fost deosebit de crescută în timpul celui de-al doilea război mondial și se caracterizează prin leziuni similare cu cele din encefalopatia alcoolică și unele manifestări psihice cum ar fi dezorientarea temporo-spațială, apatie, confuzie, amnezie, oftalmoplegie etc.

Histologic, se observă degenerescență la nivelul straturilor granulare ale cerebelului, hemoragii cerebrale perivasculare, degenerescența neuronilor etc. Dacă nu se instituie tratament de urgență constând în administrarea masivă și prelungită de tiamină (până la 1 g/zi intramuscular sau intravenos) există riscul instalării sindromului Korsakoff, caracterizat prin tulburări psihice asociate cu polinevrită.

Evoluția bolii până la acest stadiu este, de obicei, ireversibilă și este favorizată genetic de o malformație congenitală ce constă în diminuarea afinității apotranscetoazei față de coenzima sa.

b. Beri-beri la nou-născuți și copii

Prezintă, de regulă, o evoluție acută. Se observă descori asistolice acută și insuficiență cardiacă ce nu cedează la administrarea de cardiotonice. Boala se manifestă, de asemenea, prin inapetență, vomă, tulburarea somnului și pierderea în greutate urmată de hipotonie musculară.

Evoluția este rapidă, decesul putând surveni după 12 – 24 ore de la debutul simptomelor inițiale dacă nu se instituie tratamentul adecvat. Această formă extrem de gravă de beri-beri poate surveni, în principal, la nou-născuți alăptați de mame cu hipovitaminoză B₁.

La copii, manifestările clinice ale bolii sunt apropiate de cele observate la adolescenți și constau în polinevrită, encefalopatie Gayet-Wernicke sau miocardită.

Un aspect aparte îl reprezintă pericolul apariției avitaminozei B₁ în nutriția prelungită exclusiv parenterală. Literatura de specialitate citează cazuri, relativ frecvente, de apariție a carenței acute de tiamină la prematuri hrăniți exclusiv parenteral, când vitamina B₁ a fost exclusă accidental.

c. Avitaminoza B₁ în alcoolism

Cu excepția țărilor în care orezul decortecat reprezintă alimentul de bază al populației, în celelalte regiuni ale planetei, incidența maximă a cazurilor de avitaminoză B₁ la adulți se întâlnește la consumatorii cronici de alcool.

Studii relativ recente efectuate în Europa occidentală, Australia și SUA, atestă faptul că majoritatea subiecților diagnosticați cu beri-beri era formată din alcoolici cronici. Autorii recomandă administrarea sistematică de tiamină (1 g intravenos) la toți alcoolicii. Mai mult decât atât, în cazurile de acidoză lactică acută, se recomandă ca tratament de urgență administrarea de tiamină.

d. Maladii metabolice ereditare tiamino-dependente

Spre deosebire de stările acute de avitaminoză B₁, există o serie de maladii metabolice ereditare ale căror simptome clinice și biochimice cedează numai la administrare continuă și în doze masive a tiaminei, deși nivelul acesteia în sânge și urină, precum și activitatea *transcetolazică* sunt normale. Acestea constituie un veritabil model în studiul rolului biologic al tiaminei, dat fiind faptul că ele oferă posibilitatea unică de evaluare a consecințelor clinice și biochimice ale întreruperii unei căi metabolice tiamino-dependente la om.

e. Leucinoze sensibile la tiamină

Leucinoza este o eroare ereditară metabolică ce afectează procesul de decarboxilare oxidativă a trei α -cetoacizi rezultați în urma transaminării leucinei, izoleucinei și valinei. Din această cauză, se observă o creștere a concentrației sanguine și urinare a celor trei aminoacizi și a cetoacizilor corespunzători. Formele acute corespund unui deficit enzimatic total și debutează prin comă, chiar în perioada neonatală.

În formele mai puțin severe, cu debut tardiv, activitatea enzimatică este redusă (2 – 30% din valoarea normală). Simptomele clinice pot să apară după 1 lună – 2 ani și constau în ataxie, vărsături, întârzierea creșterii, acidoză, convulsii, retardare mentală etc. În majoritatea cazurilor, instituirea unei vitaminoterapii adecvate a determinat o evoluție favorabilă. Dozele de tiamină administrate în vederea normalizării parametrilor biochimici și dispariției simptomelor clinice oscilau între 10 și 1000 mg/zi. Din punct de vedere biochimic, se observă o scădere a afinității *BCKA-dehidrogehazei* (dehidrogenazele cetoacizilor ramificați – *Branched Chain Keto Acid dehydrogenase*) față de TPP ($K_M = 25 \mu M$ față de $1,6 \mu M$ valoare normală).

f. Acidoza lactică congenitală sensibilă la tiamină

Studiile și observațiile efectuate până în prezent indică o incidență foarte mică a bolnavilor cu tulburări ereditare ale metabolismului piruvatului ce reacționează la tiamină. Datele raportate se referă la copii cu vârste cuprinse între 1 zi și 8 ani. În toate cazurile, s-au semnalat anomalii neurologice, convulsii, ataxie și lactacidemie ușor crescută. Doze foarte mari de tiamină (peste $1,5 \text{ g/zi}$) au determinat dispariția sau cel puțin ameliorarea simptomelor.

Observațiile clinice n-au fost extinse în aceste cazuri și asupra studiului mecanismelor moleculare din cauza dificultăților studiului complexului *piruvatdehidrogenazei* al fibroblastelor în cultură.

g. Encefalopatia necrotică subacută Leigh-Feigin-Wolf

Această afecțiune este extrem de heterogenă și este cauzată de o multitudine de factori metabolici: deficit de *piruvat-carboxilază*, *piruvat-dehidrogenază*, *citocrom c-reductază*, *biotinidază* etc. Deoarece în urma administrării de tiamină în doze mari are loc o ameliorare indiscutabilă a maladiei, se consideră că acest sindrom este tiamino-dependent, deși părerile specialiștilor sunt controversate (Hung et al., 2001).

h. Anemia megaloblastică tiamino-dependentă

Asocierea anemiei megaloblastice cu surditatea neurosenzorială, diabetul zaharat și cu manifestările neurologice și cardiace acute asemănătoare

celor din beri-beri, constituie o problemă pe cât de misterioasă, pe atât de interpretabilă privind rolul biologic al tiaminei. Coincidența acestei maladii cu consangvinitatea parenterală pledează pentru o ereditate de tip recesiv autosomal.

Anemia apare, în general, în primul an de viață, uneori în primele săptămâni ale perioadei neonatale, ca anemie megaloblastică și sideroblasti medulari neregenerativi, rezistentă la cobalamină (vitamina B₁₂), acid folic și piridoxină (vitamina B₆). Ea este constant asociată cu surditate neuro-senzorială bilaterală și diabet zaharat, cu o curbă anormală a hiperglicemiei provocate.

Natura dereglărilor metabolice primare rămâne necunoscută. Tiaminemia și activitatea *transcetolazică* sunt normale sau ușor crescute. În toate cazurile observate până în prezent, administrarea de vitamină B₁ determină efecte spectaculoase în sens pozitiv.

Boli genetice

Bolile genetice în legătură cu transportul tiaminei sunt rare, dar grave. *Thiamine Responsive Megaloblastic Anemia with diabetes mellitus and sensorineural deafness* (TRMA) este o tulburare autosomală recesivă cauzată de mutații în gena SLC19A2, un transportor cu afinitate mare pentru tiamină. Pacienții cu TRMA nu prezintă semne de deficiență sistemică a tiaminei, sugerând surplus în sistemul de transport al tiaminei. Aceasta a dus la descoperirea unui alt transportor al tiaminei, de o afinitate aproape la fel de mare, SLC19A3.

3.1.8. Antivitamine B₁

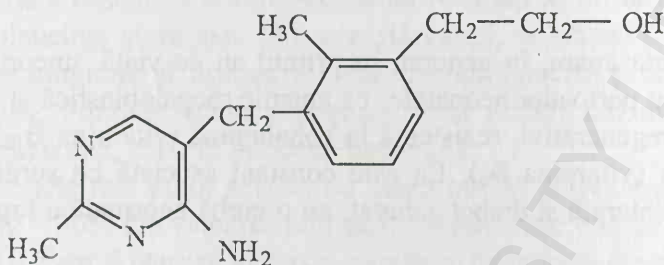
Există numeroase substanțe cu acțiune antagonistă tiaminei care pot fi omologi structurali ai acesteia, dar pot avea și structuri chimice total diferite.

Printre substanțele cu acțiune antivitaminică B₁ foarte accentuată se numără și *tiaminazele*, enzime ce se găsesc în unele specii de pești cum ar fi crapul și heringul, unele crustacee, unele plante (*Pteris aquilina*) și unele microorganisme (*Bacillus aneurinolyticus*).

Acțiunea antivitaminică a tiaminazelor constă în degradarea de către acestea a moleculei de tiamină cu clivarea celor doi heterocicli. Ca antivitamine mai acționează și unii pigmenți de tipul *astragalinelui*, *izovercetinului* sau *rutinelui*.

Printre omologii structurali cu acțiune antivitaminică B₁, cei mai importanți sunt *neopiritiamina* în care ciclul tiazolic este înlocuit cu un

nucleu pirimidinic și *hidroxitiamina*, în care gruparea aminică este înlocuită cu o grupare alcoolică.



neopiritiamină

3.2. Vitamina B₂ (riboflavina, vitamina G)

3.2.1. Generalități

Pentru prima dată, riboflavina a fost identificată în lapte în 1878 de către *Bluzh* sub forma unui pigment galben-verzui fluorescent, care a primit numele de **lactoflavină**. Mult mai târziu, în 1932, *Keihn* descoperă un pigment cu proprietăți asemănătoare în albușul de ou pe care-l numește **ovoflavină** (citată de *Ababei și Trandafirescu*, 1974; *Enescu*, 1978).

Ulterior, a fost semnalată prezența unor compuși similari în ficat, rinichi, urină, mușchi, drojdii, unele plante (lucernă) etc., primind denumiri derivate de la materialul biologic unde au fost identificați: hepatoflavină, uroflavină, verdoflavină etc.

După determinarea structurii chimice, s-a demonstrat faptul că, de fapt, este vorba de una și aceeași substanță, cu proprietăți fluorescente, care a primit numele de **riboflavină** deoarece conține un rest ribitol (*Ikan*, 1991).

Primele cercetări asupra rolului biologic al riboflavinei au fost demarate încă înainte de elucidarea formulei sale chimice. Astfel, *Kuhn* și *György* arată că, dacă șobolanii tineri sunt supuși la o dietă sintetică cu adaos de tiamină, aceștia scad în greutate, restaurarea creșterii având loc în urma adăusului de lapte, ficat sau tărate de orez.

Cum în perioada respectivă nu erau cunoscute metodele biologice sau fizico-chimice de analiză, *Kuhn* reușește să demonstreze faptul că rata

de creștere în greutate a animalelor de experiență depinde, în mod direct, de intensitatea fluorescenței concentratelor folosite la prepararea hranei și postulează că vitamina B₂ este identică cu pigmentul galben-verzui care determină fluorescența.

După numeroase cercetări el reușește să izoleze și să purifice din lapte și ou riboflavina care, adăugată în rația animalelor, a determinat o puternică acțiune de stimulare a creșterii.

Concomitent, *Ellinger* și *Koschra* izolează din drojdie, lapte, ser și alte surse o substanță fluorescentă pe care o numesc liocrom. Denumirea de riboflavină a fost dată acestor pigmenți fluorescenți în 1933, după ce *Kuhn* și *Karrer* arată că în structura lor intră un nucleu izoaloxazinic legat de un radical ribitol.

3.2.2. Structura chimică și proprietățile riboflavinei

Din punct de vedere structural, riboflavina este 6,7-dimetil-9-(D-1'-ribitol)-izoaloxazina:



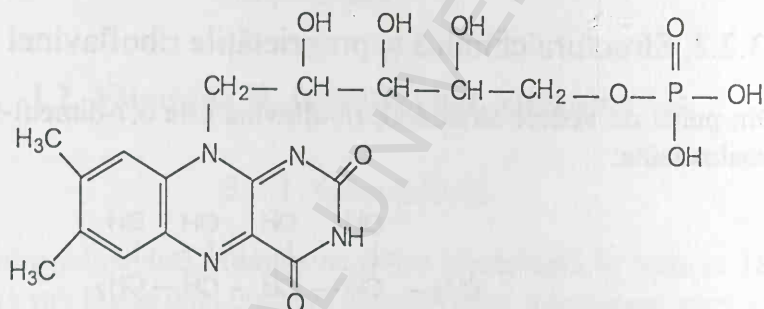
Această structură a fost confirmată și prin sinteză chimică. Riboflavina este o substanță cristalină, de culoare galben-oranj, fără miros, cu gust amar și cu solubilitate diferită în apă, în funcție de polimorfismul structural, cuprinsă între 140 și 2300 μg/ml.

Leucoderivatul obținut prin reducerea riboflavinei este un compus incolor, lipsit de fluorescență și cu solubilitate redusă (aproximativ 8 μg/ml la temperatura camerei), proprietate ce stă la baza precipitării selective a riboflavinei din produsele naturale.

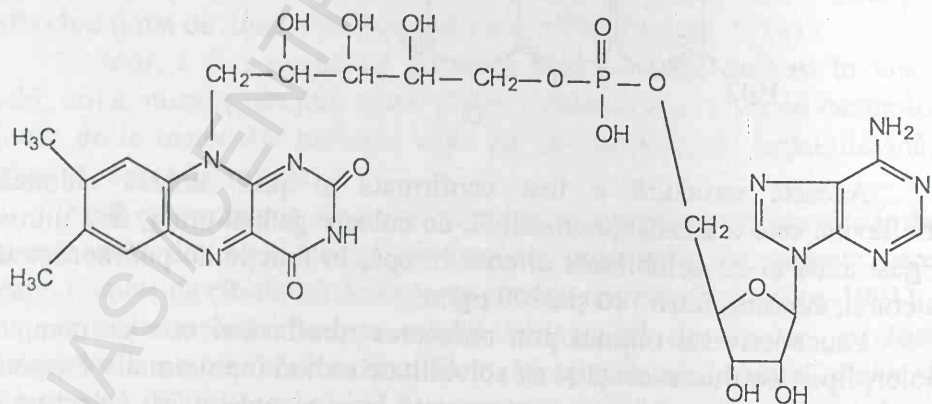
Riboflavina este ușor solubilă într-o serie de solvenți cum ar fi alcool amilic, fenol, ciclohexanol, alcool benzilic etc., dar insolubilă în eter, acetonă, cloroform și benzen.

Soluțiile alcaline au acțiune distructivă asupra riboflavinei, aceasta fiind stabilă în mediu acid și în prezența agenților oxidanți obișnuiți cum ar fi apa de brom, apa oxigenată sau acidul azotic. Astfel, într-o concentrație de 5 $\mu\text{g/ml}$, riboflavina nu se modifică structural la 100°C, timp de o oră și la pH cuprins între 1,3 și 6,5. Rezistă la căldură (ceea ce înseamnă că nu se distruge prin sterilizarea alimentelor), precum și la congelare; în schimb, se degradează ușor sub acțiunea razelor ultraviolete.

Culoarea galbenă a flavinelor este datorată maximului de absorbție în domeniul albastru și violet ale spectrului. În organismele vii, riboflavina se găsește atât în stare liberă cât și sub forma a doi derivați nucleotidici cu rol coenzimatic: flavin-mononucleotidul (FMN) și flavinadenin-dinucleotidul (FAD):



Flavinmononucleotid (FMN, riboflavin-5'-monofosfat)



Flavinadenindinucleotid (FAD)

Împreună cu ionii de Mg^{2+} , riboflavina exercită un rol protector asupra vitaminelor B_6 și B_3 , din care cauză carența în riboflavină și magneziu poate determina, ca efect secundar, apariția hipovitaminozei B_6 și

B₃. În plus, vitamina B₂ mai îndeplinește și o funcție de protecție antioxidantă, fiind implicată în regenerarea glutatationului, principalul detoxifiant al organismului.

Spectrele de absorbție ale riboflavinei și FMN sunt identice, în timp ce spectrul FAD-ului pare a avea unele deviații.

Din punctul de vedere al mobilității electroforetice, coenzimele flavinice se comportă ca anioni la pH = 7,2, în timp ce riboflavina se comportă ca o moleculă neutră. Spre deosebire de riboflavină, care este instabilă în mediu alcalin, FMN este destul de stabil, iar FAD-ul se transformă într-un compus ciclic.

3.2.3. Stare naturală

În diferite surse naturale, vitamina B₂ se găsește atât sub formă de riboflavină liberă, cât și sub forma celor două coenzime nucleotidice. Cea mai bogată sursă de riboflavină pentru om este drojdia de bere care conține până la 7 mg/100g. Obținerea preparatelor farmaceutice de vitamină B₂ se face prin fermentație, prin utilizarea unor tulpini microbiene de *Ashbya gossypii* și *Candida guilliermondii*, bune producătoare de riboflavină (Cojocaru și colab., 1986; Olteanu și colab., 1994).

Marea majoritate a alimentelor de origine animală sau vegetală conțin cantități apreciabile de riboflavină ce satisfac pe deplin necesitățile organismului uman (tabelul 3.4).

Tabelul 3.4

Conținutul în riboflavină al unor produse alimentare*

Nr. crt.	Sursa alimentară	mg vitamină B ₂ / 100 g
1	Drojdie de panificație	5,0 – 6,0
2	Ficat de miel	4,5 – 5,5
3	Ficat de vită	4,0 – 4,5
4	Drojdie de bere	4,0 – 4,5
5	Ouă	0,5 – 0,7
6	Ciuperci crude	0,5 – 0,6
7	Mușchi de porc, vită	0,25 – 0,45
8	Iaurt, lapte integral	0,20 – 0,25
9	Broccoli	0,20
10	Avocado	0,20
11	Pâine integrală	0,15
12	Orez nedecorticat	0,10

* L'Encyclopédie Médicale, Paris, 2003.

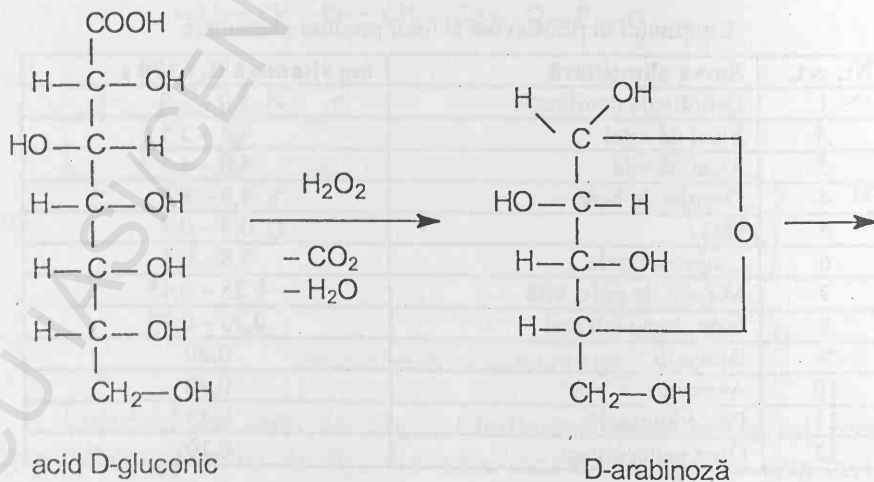
Printre alimentele cele mai bogate în vitamină B₂ se numără ficatul, brânzeturile, ouăle, mușchiul de vită și porc, vinul roșu și mai puțin cel alb, spanacul, tomatele, ceaiul etc. Conținutul în riboflavină al fructelor și zarzavaturilor crește până la maturitate, după care scade treptat. În procesul de maturare a cașcavalului, între a treia și a șasea lună, conținutul în vitamină crește, de asemenea, considerabil.

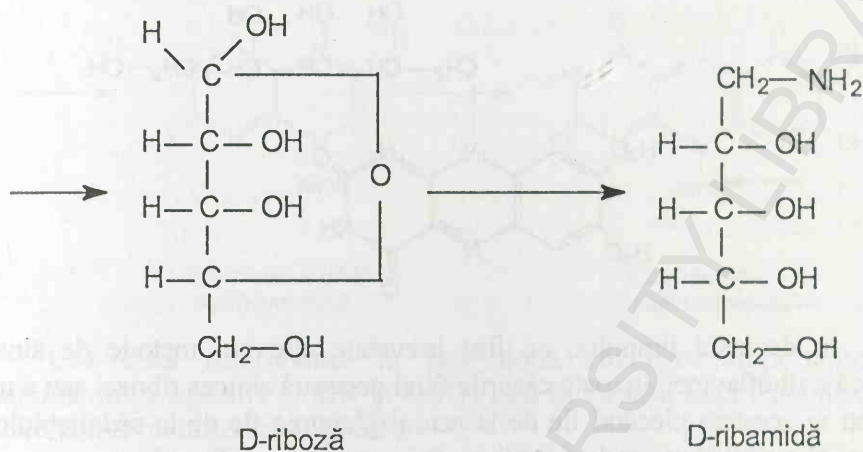
3.2.4. Sinteza chimică a riboflavinei

Preparatele farmaceutice de vitamină B₂ se obțin fie prin biosinteză microbiană fie prin sinteză chimică. În industria de biosinteză, cel mai adesea riboflavina se obține prin fermentarea zerului sau laptelui smântânit cu *Clostridium acetobutylicum*.

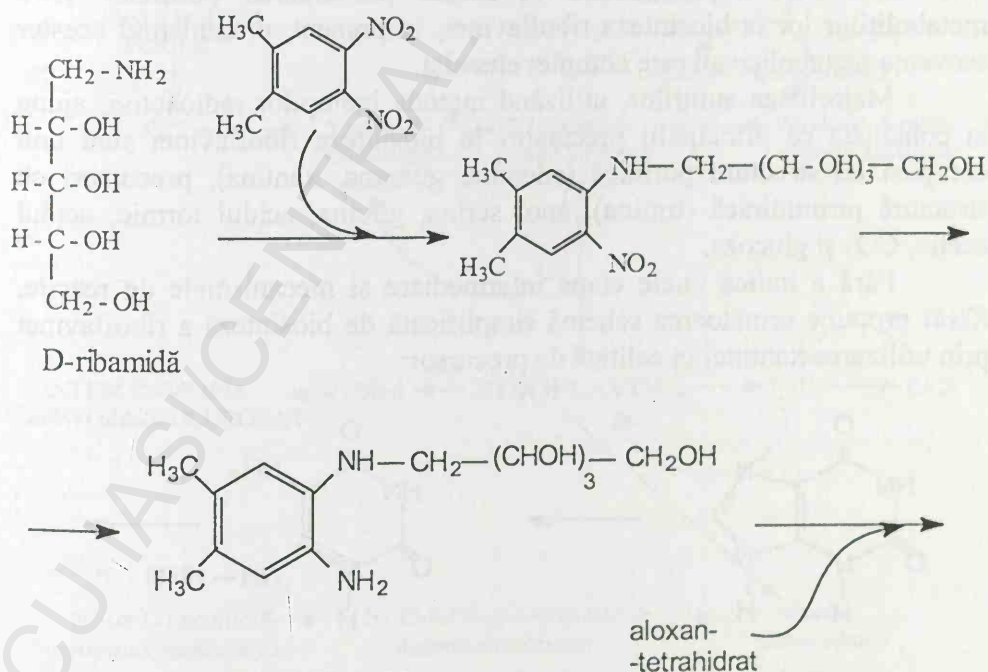
Când se utilizează în calitate de surse de carbon și energie glucoza, biosinteza este realizată de diferite specii de levuri ale genului *Candida*: *C. guillermundii*, *C. tropicalis* sau unele ciuperci microscopice (*Ashbya gossypii*, *Eremothecium ashbyi* etc.) (Marin și colab., 1986; 1994).

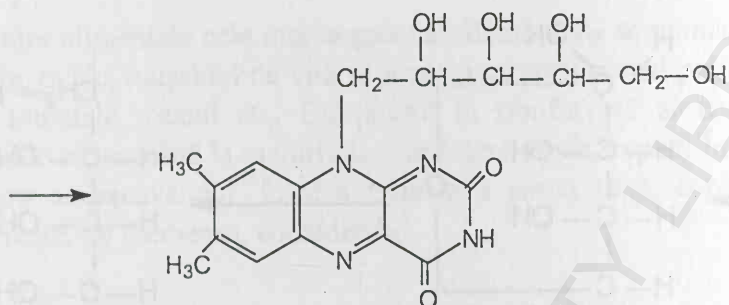
Pentru satisfacerea necesarului de riboflavină, industria farmaceutică recurge și la sinteza ei chimică. Un prim proces tehnologic utilizează în calitate de precursor acidul gluconic care este transformat în arabinoză prin decarboxilare cu acetat feric și apă oxigenată. Arabinoza este transformată în riboză, iar oxima acesteia trece în ribamidă:





D-Ribamida formată este condensată cu 1,2-dimetil-4,5-dinitrobenzenul în mediu alcoolic la 130°C, iar produsul rezultat este redus la amino-derivatul corespunzător ce se condensează, în mediu acid, cu tetrahidratul de aloxan, cu formare de riboflavină:





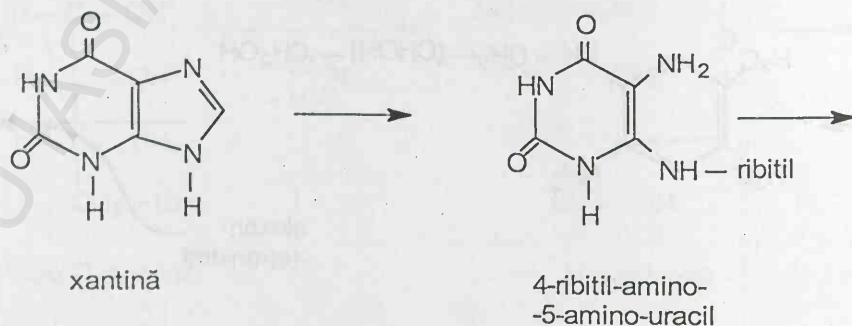
În decursul timpului, au fost brevetate alte noi metode de sinteză chimică a riboflavinei, în toate cazurile fiind necesară sinteza ribozei sau a unor derivați ai acesteia plecând fie de la acidul gluconic fie de la sedoheptuloză. Mai există o serie de metode ce utilizează drept precursor D-arabinoza.

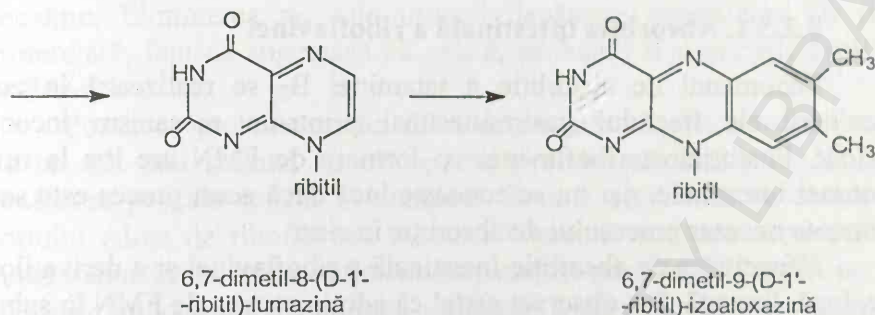
3.2.5. Metabolismul riboflavinei

În organismul animal și uman, cantități însemnate de riboflavină sunt sintetizate la nivelul intestinului de către flora sa microbiană. Deși există numeroase date experimentale ce atestă participarea purinelor și a metaboliților lor la biosinteza riboflavinei, în prezent, mecanismul acestor secvențe metabolice nu este complet elucidat.

Majoritatea autorilor, utilizând metoda izotopilor radioactivi, ajung la concluzia că principalii precursori în biosinteza riboflavinei sunt unii compuși cu structură purinică (adenina, guanina, xantina), precursori cu structură pirimidinică (timina), apoi serina, glicina, acidul formic, acidul acetic, CO_2 și glucoza.

Fără a indica unele etape intermediare și mecanismele de reacție, *Kishi* propune următoarea schemă simplificată de biosinteză a riboflavinei prin utilizarea xantinei în calitate de precursor:





Conversia riboflavinei în cele două coenzime importante ale metabolismului oxidativ (FMN și FAD) este în strânsă interdependență cu metabolismul intermediar (fig. 3.5).

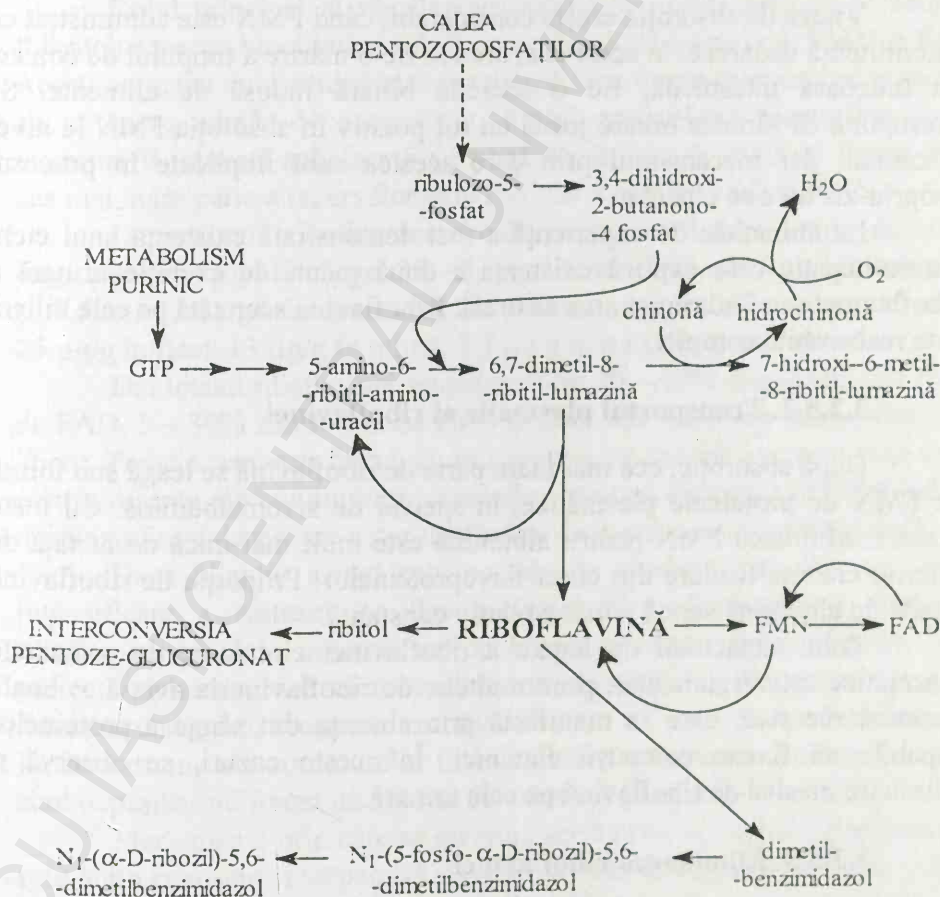


Figura 3.5. Interdependența dintre căile de conversie a vitaminei B₂ în coenzime flavinice și diferite căi ale metabolismului intermediar (Voet and Voet, 1990).

3.2.5.1. Absorbția intestinală a riboflavinei

Fenomenul de absorbție a vitaminei B₂ se realizează în zonele superioare ale tractului gastrointestinal printr-un mecanism incomplet elucidat. Fosforilarea riboflavinei cu formare de FMN are loc la nivelul mucoasei intestinale, dar nu se cunoaște încă dacă acest proces este sau nu realmente necesar procesului de absorbție în sine.

Capacitatea de absorbție intestinală a riboflavinei și a derivaților săi este, însă, limitată. S-a observat astfel că administrarea de FMN la subiecții normali conduce la o eliminare pe cale renală proporțională cu doza ingerată. Însă, la doze mari (peste 50 mg FMN), nu are loc și o creștere a ratei de excreție, fapt ce sugerează existența unui mecanism special de absorbție după o anumită doză.

Viteza de absorbție crește considerabil când FMN este administrat cu intermitență deoarece, în acest caz, are loc fie o mărire a timpului de contact cu mucoasa intestinală, fie o secreție biliară indusă de alimente. Se presupune că sărurile biliare joacă un rol pozitiv în absorbția FMN la nivel intestinal, dar mecanismul prin care acestea sunt implicate în procesul propriu-zis nu este elucidat.

La animalele de experiență a fost demonstrată existența unui ciclu entero-hepatic care explică existența a două picuri de excreție urinară a riboflavinei după administrarea sa orală. Riboflavina secretată pe cale biliară este reabsorbită complet.

3.2.5.2. Transportul plasmatic al riboflavinei

După absorbție, cea mai mare parte de riboflavină se leagă sub formă de FMN de proteinele plasmatică, în special de serumalbumină. Cu toate acestea, afinitatea FMN pentru albumină este mult mai mică decât față de diferite enzime tisulare din clasa flavoproteinelor. Proporția de riboflavină legată de albumină serică rămâne relativ constantă.

Rolul capacității de legare a riboflavinei circulante de proteinele plasmatică este argumentat, printre altele, de riboflavinuria aviară, o boală genetică recesivă, care se manifestă prin absența din sânge a proteinelor capabile să fixeze compușii flavinici. În aceste cazuri, se observă o eliminare masivă de riboflavină pe cale urinară.

3.2.5.3. Eliminarea riboflavinei

La om, excreția riboflavinei se face simultan pe cale urinară și prin fecale, predominant sub formă liberă și mai puțin sub forma celor două

coenzime. Eliminarea pe cale urinară depășește capacitatea de filtrare glomerulară, fapt ce sugerează că există, probabil, și o secreție tubulară a riboflavinei.

Ponderea proteinelor din dietă determină excreția riboflavinei care este cu atât mai scăzută cu cât aportul proteic este mai mare și invers. Eliminarea pe cale renală a vitaminei B₂ mai reprezintă și o măsură a aportului zilnic de riboflavină. Această vitamină mai este secretată și de glanda mamară, cu viteză suficient de mare, de până la 300 μg/24 ore, fapt extrem de important din punct de vedere al aportului vitaminic pentru nou născut.

3.2.5.4. Stocarea și utilizarea riboflavinei

Rolul principal al riboflavinei constă în participarea sa în cataliza diferitelor reacții biochimice sub forma celor două coenzime, FMN și FAD. Acești compuși nucleotidici au capacitatea de a forma interacțiuni puternice cu un mare număr de apoenzime. Astfel, majoritatea țesuturilor conțin vitamina B₂ stocată sub formă de riboflavină doar în cantități foarte mici, cea mai mare parte a rezervelor existând sub formă de FAD și FMN.

Concentrația riboflavinei circulante oscilează între limite destul de largi: 49 – 104 μg/l în sânge, 26 – 37 μg/l în ser, 180 – 265 μg/l în eritrocite și 2,27 – 2,95 μg/l în leucocite. În țesuturi, concentrația este mai mare: 25 μg/g în ficat, 13 μg/g în inimă, 2,7 μg/g în mușchii striati etc.

Din totalul riboflavinei sanguine, între 70 – 90% este legată sub formă de FAD, 5 – 30% sub formă de FMN și doar 0,5 – 2% sub forma vitaminei libere. Trebuie remarcat faptul că, în literatura de specialitate, sunt date valori relativ diferite ale conținutului diferitelor țesuturi și organe în vitamină B₂, cifrele indicate de fiecare autor depinzând de metoda de dozare utilizată.

Dacă bilanțul azotat este pozitiv, la nivelul țesuturilor are loc o intensificare a sintezei de flavoproteine și o diminuare a eliminării riboflavinei pe cale urinară, iar dacă acesta este negativ, precum și în perioada pubertară, are loc o accelerare a procesului de degradare tisulară a flavoproteinelor cu creșterea excreției urinare. Se pare, însă, că există niște limite extreme ale conținutului în coenzime flavinice ale țesuturilor ce nu sunt depășite, indiferent de aportul de vitamină exogenă.

Mecanismul prin care se menține acest nivel al coenzimelor flavinice este puțin cunoscut și se pare că, la baza lui, nu stă reglarea de tip *feed-back* a enzimelor implicate în biosinteza FAD-ului (*flavokinaza*, *FMN-pirofosforilaza*) sau în degradarea sa (*pirofosfataza*, *FMN-fosfataza*).

Este foarte posibil ca FAD-ul nelegat de apoenzime să fie mult mai susceptibil față de acțiunea hidrolazelor specifice comparativ cu FAD-ul legat. De aceea, când cantitatea de FAD nou sintetizat depășește capacitatea de legare a apoenzimelor, fracțiunea liberă este mai degrabă hidrolizată enzimatic decât stocată. În experiențe pe șobolani, s-a demonstrat că timpul de înjumătățire tisulară a riboflavinei marcate este de aproximativ 16 zile.

3.2.5.5. Controlul tiroidian al metabolismului riboflavinei

Hormonii tiroidieni induc activitatea *flavokinazei* ce catalizează fosforilarea riboflavinei cu formare de FMN. În felul acesta, nivelul hepatic al FMN și FAD, precum și enzimele implicate în biosinteza acestor cofactori se află sub controlul hormonilor glandei tiroide.

În hipotiroidism, cantitățile de FMN, FAD și riboflavină hepatică sunt reduse cu până la 70%. Aceste considerații, coroborate cu alte observații clinice și biologice, au sugerat ipoteza că hipotiroidia poate reprezenta una din formele de deficit de riboflavină.

3.2.6. Rolul biologic al riboflavinei

Principală funcție a riboflavinei în organismele vii o constituie participarea acesteia în calitate de cofactor al unui mare număr de enzime flavinice sub formă de FAD și FMN. Enzimele FMN- și FAD-dependente fac parte din catena respiratorie, participă la procesul fotosintetic, dezaminarea oxidativă a aminoacizilor, oxidarea hidroxiacizilor și a aldehydelor, la procesele de încorporare a iodului în căile de biosinteză a hormonilor tiroidieni etc.

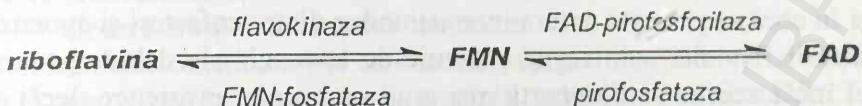
Datorită participării sale în structura enzimelor flavin-dependente, vitamina B₂ este absolut indispensabilă metabolismului normal al tuturor organismelor vii, reglării procesului de creștere, asigurării integrității morfologice și funcționale a pielii și mucoaselor precum și a corneei.

Specificitatea acțiunii vitaminice a riboflavinei depinde, în mare măsură, de prezența celor două grupe metilice ale nucleului izoaloxazinic, de absența unor substituenți la azotul grupării -NH- din poziția 3, precum și de natura zahărului din poziția 9 a aceluiași nucleu.

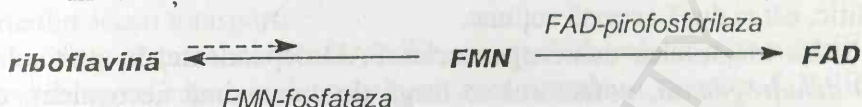
3.2.6.1. Intertransformarea riboflavinei – FMN-FAD

Interconversia dintre riboflavină și formele sale nucleotidice este diferită la subiecții normali și cei cu carență în vitamină B₂ și poate fi redată schematic astfel:

– La subiecții normali:

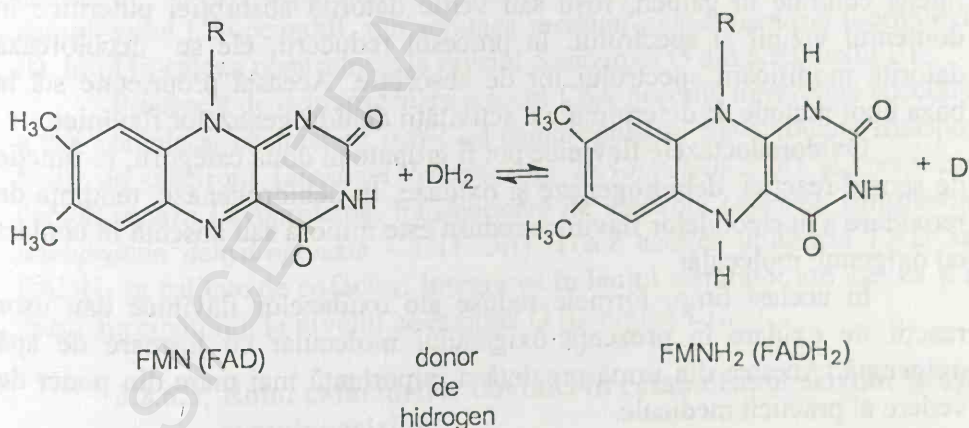


– În carență vitaminică:



FMN și FAD acționează, în calitate de cofactori, în numeroase procese de dehidrogenare și oxidare. Partea activă a coenzimelor flavinice, responsabilă de realizarea proceselor de oxidoreducere la care participă flavoenzimele, o constituie nucleul izoaloxazinic, mai exact sistemul celor două duble legături conjugate de tipul $\text{N}=\text{C}^*-\text{C}^*=\text{N}$ – din ciclurile B și C ale acestui nucleu.

În reacțiile de dehidrogenare a substratelor, acest sistem de legături duble are capacitatea de a da reacție de adiție 1,4 similară cu cea de la diene, iar, în procesele de reducere, are loc reacția inversă:



De regulă, aceste reacții se ilustrează ca un proces de transfer direct al unei perechi de atomi de hidrogen proveniți de la substrat. În realitate, reacția are loc în două etape, în fiecare din ele având loc fixarea câte unui echivalent reducător, ceea ce înseamnă că se formează, în calitate de produs intermediar instabil, un carbocation.

Dehidrogenazele flavinice se deosebesc net de cele piridinice (NAD^+ -dependente) atât din punct de vedere al mecanismului de acțiune, cât și în ceea ce privește natura interacțiunilor dintre cofactori și apoenzimă. Cofactorii flavinici sunt legați puternic de apoenzimele dehidrogenazelor, astfel încât aceștia se comportă mai mult ca grupări prostetice decât ca și coenzime. Cofactorii flavinici rămân legați atât în timpul realizării actului catalitic, cât și după această acțiune.

La majoritatea dehidrogenazelor FAD-dependente, în particular la *NAD-dehidrogenază*, cofactorul se leagă de apoenzimă necovalent, chiar dacă interacțiunile sunt puternice. În aceste cazuri, constantele de disociere sunt de ordinul $10^{-8} - 10^{-11}$ M. Există, însă, și alte enzime flavinice cum ar fi *succinat- dehidrogenaza* în care cofactorul se leagă covalent de apoenzimă, legătura realizându-se între nucleul izoaloxazinic al FAD-ului și un rest de aminoacid din secvența polipeptidică a apoenzimei.

Unele flavoproteine sunt, în același timp, și enzime metal-dependente, conținând în structura lor ioni metalici, mai frecvent fier și molibden, care sunt indispensabili activității lor catalitice. Flavoenzimele fier-dependente conțin, în același timp, și atomi de sulf extrem de reactivi în structura situsului lor catalitic.

Formele oxidante ale diferitelor enzime flavin-dependente sunt intens colorate în galben, roșu sau verde datorită absorbției puternice în domeniul vizibil al spectrului. În procesul reducerii, ele se decolorează datorită modificării spectrului lor de absorbție. Această proprietate stă la baza unor metode de determinare a activității dehidrogenazelor flavinice.

Oxidoreductazele flavinice pot fi grupate în două categorii, în funcție de sensul reacției: dehidrogenaze și oxidaze. În dehidrogenaze, tendința de reoxidare a nucleotidelor flavinice reduse este minoră sau absentă în contact cu oxigenul molecular.

În același timp, formele reduse ale oxidazelor flavinice dau ușor reacții de oxidare în prezența oxigenului molecular cu formare de apă oxigenată. Acestea din urmă prezintă o importanță mai mare din punct de vedere al practicii medicale.

3.2.6.2. Rolul coenzimelor flavinice în catena respiratorie

Transportul de electroni de la NADH și FADH_2 până la oxigen se realizează printr-o succesiune de reacții de oxido-reducere la nivelul membranei interne a mitocondriilor cu participarea componentelor catenei respiratorii (dehidrogenaze flavoproteice, ubiquinona, sistemul citocromic și

Fe-S-proteine). Aceștia reprezintă aproximativ 25% din proteinele membranei interne mitocondriale.

Fiecare treaptă a lanțului respirator este reprezentată de o reacție redox între doi constituenți ai catenei cu potențial de oxido-reducere diferit. Constituenții catenei respiratorii prezintă solubilitate diferită în lipidele membranare, fiind posibilă izolarea unor complecși lipoproteici ce conțin o parte din acești transportori.

Prin tratarea cu alcool amilic sau cu deoxicolat a mitocondriilor din inima de bou, Green a izolat patru asemenea complecși, notați cu I, II, III și IV. Complexul I care este, de fapt, *NADH - coenzima Q-reductaza* conține *NADH-dehidrogenaza*, complexul II sau *succinat - coenzima Q-reductaza* conține *succinat-dehidrogenaza* și citocromul b, complexul III (*coenzima Q-citocrom c-reductaza*) conține citocromii b și c_1 și coenzima Q, iar complexul IV sau *citocrom c-oxidaza*, conține citocromii a și a_3 . Toți acești complecși lipoproteici conțin 20 – 30% lipide, iar în primii trei se găsesc și proteine ce conțin fier neheminic (Fe-S-proteine și Fe-proteine).

Riboflavina joacă un rol major în funcționarea catenei respiratorii, stând la baza procesului de reglare a utilizării energiei. Ea controlează utilizarea energiei tuturor substanțelor de origine glucidică și proteică care se degradează prin ciclul acizilor tricarboxilici sub acțiunea dehidrogenazelor *NADH*-dependente și intră în catena respiratorie la nivelul complexului I. Succinatul, sub acțiunea *succinat-dehidrogenazei* (complexul II), intră în catena respiratorie la nivelul coenzimei Q din complexul III.

Procese de dehidrogenare a acetil-CoA necesită intervenția succesivă a trei complecși enzimatici: *acil-CoA-dehidrogenaza*, flavoproteina transportoare de electroni (*electron transferring flavoprotein-ETF*) și, respectiv, dehidrogenaza flavoproteinei transportoare de electroni (*electron transferring flavoprotein dehydrogenase* – *ETF-DH*). Toate acestea utilizează FAD sau $FADH_2$ în calitate de cofactor. Integrarea în lanțul respirator are loc, ca și în cazul succinatului, la nivelul coenzimei Q (complex III).

3.2.6.3. Rolul cofactorilor flavinici în catabolismul acizilor grași și aminoacizilor

Rolul FAD-ului în catabolismul unor aminoacizi și a acizilor grași a fost clarificat în urma descrierii unor maladii ereditare ce constau în degradarea simultană a unor etape enzimactice ce au drept punct comun utilizarea FAD-ului în calitate de cofactor. Există 5 aminoacizi esențiali în catabolismul cărora intervine o etapă de dehidrogenare sub acțiunea unor *acil-CoA-dehidrogenaze* FAD-dependente specifice:

- în catabolismul leucinei, deficitul de *izovaleril-CoA-dehidrogenază* determină acumularea de acid izovalerianic;
- în catabolismul izoleucinei, deficitul de α -*metil-butiril-CoA-dehidrogenază* determină acumularea de acid α -metil-butyric;
- în catabolismul valinei, deficitul de *izobutiril-CoA-dehidrogenază* conduce la acumularea acidului izobutyric;
- în catabolismul lizinei și triptofanului, deficitul de *glutaril-CoA-dehidrogenază*, determină acumularea în organism a acidului glutaric.

Pe de altă parte, în calea metabolică de degradare a acizilor grași prin β -oxidare, intervine complexul enzimatic *acil-CoA-dehidrogenaza*, al cărei mecanism de acțiune include o etapă FAD-dependentă. Există trei *acil-CoA-dehidrogenaze* mitocondriale specifice, în funcție de mărimea catenei hidrocarbonate a restului acil: *acil-CoA-dehidrogenaza* „de catenă lungă” ce acționează asupra resturilor C_{12} - C_{18} , *acil-CoA-dehidrogenaza* „de catenă medie” specifică acizilor grași C_6 - C_{14} și, respectiv, *acil-CoA-dehidrogenaza* „de catenă scurtă” sau *butiril-CoA-dehidrogenaza* care oxidează acizii grași C_4 - C_6 . Rolul enzimelor flavinice în aceste procese de dehidrogenare poate fi reprezentat schematic luând ca exemplu oxidarea hexanoil-CoA (fig. 3.6).

Toate aceste sisteme enzimatice sunt intramitocondriale. Fiecare sistem conține câte o *acil-CoA-dehidrogenază* specifică în raport cu fiecare acil-CoA și câte doi transportori de electroni: flavoproteina transportoare de electroni (FTE) și, respectiv, dehidrogenaza flavoproteinei transportoare de electroni (FTE-DH) care este o Fe-S-flavoproteină. FTE și FTE-DH sunt comune tuturor *acil-CoA-dehidrogenazelor* și reglează transferul de electroni de la *acil-CoA-dehidrogenaze* la coenzima Q din catena respiratorie.

FAD este puternic legat în complexul *acil-CoA-dehidrogenazic*, fapt constatat prin determinarea constantei K_M pentru *izovaleril-CoA-dehidrogenază* care este de ordinul a câțiva micromoli.

Accastă constatare, precum și faptul că activitatea FTE rămâne, de regulă, constantă, chiar dacă activitatea *acil-CoA-dehidrogenazei* scade în ficatul șobolanilor carențiați în riboflavină, sugerează faptul că FAD este legat, totuși, mult mai puternic de FTE decât de dehidrogenaza ca atare. Accastă ipoteză este confirmată și de faptul că activitatea *acil-CoA-dehidrogenazei* reprezintă factorul limitant al procesului la șobolanii cu carență în riboflavină.

Pentru fibroblaștii umani în cultură, valoarea K_M pentru FAD față de *acil-CoA-dehidrogenaza* „de catenă medie” este mai mică de $1 \mu\text{mol/l}$.

Legarea FAD de *acil-CoA-dehidrogenaza* „de catenă ramificată”, precum și de FTE și FTE-DH în fibroblaștii umani încă nu a fost studiată.

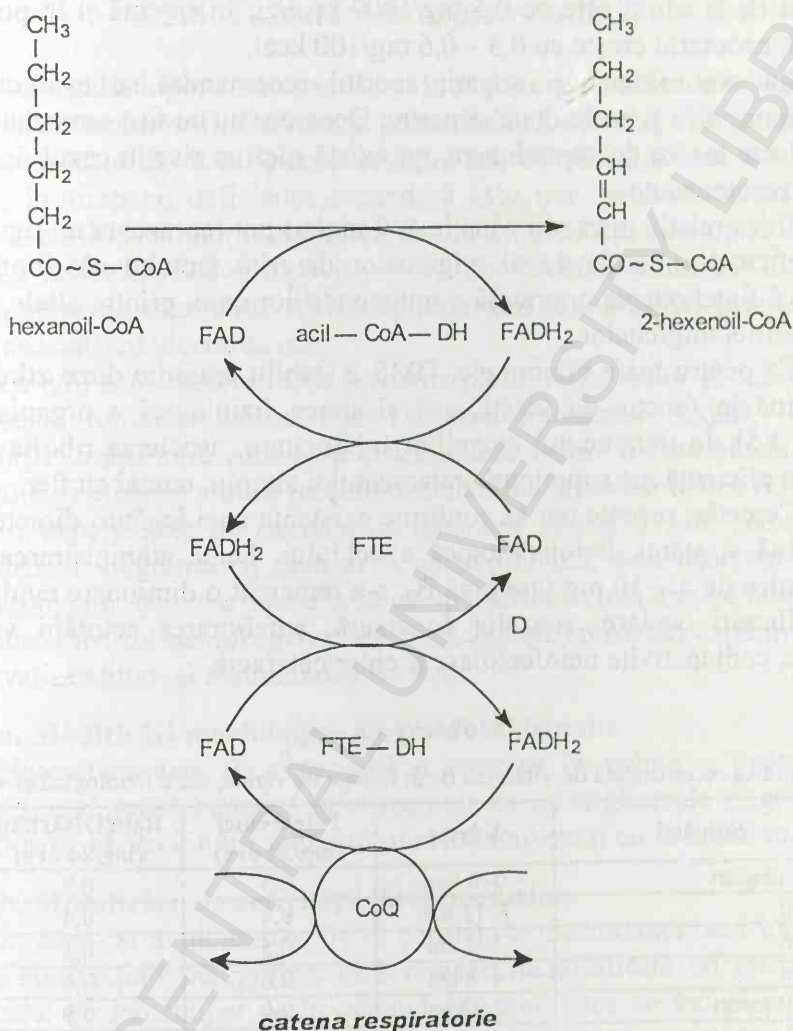


Figura 3.6. Rolul enzimelor flavinice în procesele de dehidrogenare a acizilor grași (luând ca exemplu oxidarea hexanoil-CoA) (Munnich, 1987).

3.2.7. Necesarul de vitamină B₂

Necesitățile organismului uman în riboflavină se evaluează, de regulă, în funcție de necesitățile energetice, dar pot fi exprimate și în funcție de aportul proteic. Deoarece rezervele tisulare de riboflavină la adulți nu pot fi menținute între limite normale decât atunci când aportul de vitamină exogenă este de 0,5 mg/1000 kcal, se consideră că necesarul minim de

vitamină B₂ la adulți este de 0,5 mg/1000 kcal/zi. În sarcină și în perioada alăptării, necesarul crește cu 0,3 – 0,6 mg/100 kcal.

La nou născuți și sugari, aportul recomandat se estimează la 0,4 – 0,6 mg/zi în primele două semestre. Deoarece nu au fost semnalate până acum efecte toxice de supradozare, nu există nici un risc în cazul depășirii dozelor recomandate.

Doze relativ mari (de până la 400 mg/zi) pot reprezenta un tratament ieftin, eficient și inofensiv al migrenelor datorită faptului că riboflavina împiedică funcționarea anormală a mitocondriilor care, printre altele, stă la baza apariției migrenelor.

Ca pentru toate vitaminele, OMS a stabilit anumite doze zilnice de riboflavină în funcție de vârstă, sex și starea fiziologică a organismului (tabelul 3.5). În tratamentul anemiilor microcitare, asocierea riboflavină – fier are o eficiență net superioară tratamentului simplu, numai cu fier.

Cercetări recente par să confirme existența unei legături directe între riboflavină și starea fiziopatologică a ochiului. După administrarea unor doze zilnice de 5 – 10 mg vitamină B₂, s-a remarcat o diminuare evidentă a unor tulburări oculare: senzația de arsură, ameliorarea acuității vizuale nocturne, conjunctivite neinfecțioase și chiar cataractă.

Tabelul 3.5

Doza zilnică recomandată de vitamină B₂ în funcție de vârstă, stare fiziologică și sex*

Subiecți	Vârsta	Fete/Femei (mg/24 ore)	Băieți /Bărbați (mg/24 ore)
Nou născuți	0–6 luni	0,3	0,3
Copii	7–12 luni	0,4	0,4
Copii	1–3 ani	0,5	0,5
Copii	4–8 ani	0,6	0,6
Adolescenți	9–13 ani	0,9	0,9
Adolescenți	14–18 ani	1,0	1,3
Adulți	Peste 19 ani	1,1	1,3
Femei însărcinate	Orice vârstă	1,4	–
Femei care alăptează	Orice vârstă	1,6	–

* OMS, 2003 (Freeman, 2004).

De asemenea, se pare că administrarea zilnică a unor doze rezonabile de riboflavină ar putea reduce de o manieră evidentă incidența unor cancere (cancerul pielii, esofagului și prostatei). Eficiența curativă a riboflavinei crește mult atunci când este asociată cu celelalte vitamine ale complexului B și cu magneziul.

3.2.8. Tulburări de aport vitaminic

De regulă, hipovitaminoza B₂ se întâlnește asociată cu alte hipovitaminoze și avitaminoze B. Deficiența primară de riboflavină este asociată cu consumul în cantități insuficiente de lapte sau de alte alimente de origine animală, în timp ce deficiența secundară este mai comună la diabeticii cronici, în bolile ficatului, la alcoolicii cronici și în situații post-operatorii.

La animalele tinere, hipovitaminoza riboflavinică determină încetarea creșterii, alopecie, dermatită. Alte simptome sunt conjunctivita și opacitatea corneei asociată cu ulcerarea ei.

La om, sunt caracteristice leziunile pielii, mucoaselor și ochilor. Se mai observă tulburări hematologice și gastrointestinale. Există, însă, o disproporție uriașă între cunoștințele acumulate asupra rolului biochimic al riboflavinei și efectele clinice pe care le determină hipovitaminoza B₂ la om.

În experiențele pe animale de laborator cărora li s-au administrat antagoniști ai vitaminei B₂ cum ar fi galactoflavina, s-au observat efecte foarte apropiate de cele caracteristice maladiilor ereditare ce afectează activitatea *acil-CoA-dehidrogenazelor*. Principalele constatări experimentale și observații în hipo- și avitaminoza B₂ sunt:

a. Modificări morfologice ale țesutului hepatic

Hipovitaminoza B₂ determină o creștere în volum a ficatului și degenerescență grasă hepatică prin acumularea de trigliceride și glicogen. Mitocondriile hepatocitului sunt mult mai numeroase și cu volumul mărit.

b. Modificări ale activității flavoenzimelor

În hipo- și avitaminoza B₂ se constată o discordanță netă între rata oxidării substanțelor nelipidice, care rămâne nemodificată un interval de timp destul de îndelungat de la debutul carenței, ceea ce indică faptul că lanțul respirator rămâne intact în primele săptămâni de carență, pe de o parte, și rata oxidării substratelor lipidice care scade brusc în primele zile ale unui regim sărac în riboflavină pe de altă parte.

Această scădere corespunde unei diminuări a nivelului enzimelor active și, implicit, unei acumulări de apoenzyme. În schimb, nivelul FTE și a enzimelor FAD-independente implicate în oxidarea lipidelor (cum ar fi de exemplu *carnitin-acil-transferaza*, *enol-CoA-hidrataza*, *β-hidroxiacil-CoA-dehidrogenaza*, *β-cetoacil-CoA-tiolaza*), precum și enzimele β-oxidării peroxisomale rămâne constant sau crește ușor. Scade, în același timp, activitatea altor enzime hepatice FMN- și FAD-dependente (*xantin-oxidaza*, *succinat-dehidrogenaza*, *oxidaza acidului glicolic* etc.).

În eritrocite, *glutation reductaza* și *NADH-methemoglobin-reductaza* își diminuează foarte puțin activitatea. Adăusul de FAD într-un hemolizat eritrocitar provenit de la șobolani avitaminizați determină o creștere a activității *glutation-reductazei* de 2 – 3 ori, în timp ce această creștere este minoră dacă animalele au primit o hrană bogată în riboflavină.

La omul sănătos, administrarea de riboflavină în doze de ordinul a 5 mg/zi conduce la o oarecare creștere a activității *glutation-reductazei* eritocitare începând cu a doua zi de tratament. Această creștere este mult mai puternică dacă subiectul prezintă carență vitaminică. De aceea, determinarea activității *glutation-reductazei* eritocitare stă la baza testului de evaluare *in vivo* a nivelului vitaminei B₂.

c. Aciduria

La animalele avitaminizate, se observă apariția, în primele săptămâni, a unei eliminări anormale pe cale renală de acizi organici, similară cu cea observată în deficitul ereditar de *acil-CoA-dehidrogenază*. Aceștia rezultă fie prin acumularea de metaboliți intermediari formați în etapele anterioare acțiunii *acil-CoA-dehidrogenazei* care este deficitară, fie datorită degradării acestora pe căi metabolice secundare. Acestea constau, în principal, în reacții de carboxilare, ω -oxidare microsomială etc. și în procese de detoxifiere ce au loc preponderent prin conjugare cu glicina sau prin acilarea carnitinei.

Aciduria este determinată de eliminarea acizilor adipic, sebacic, suberic, glutaric, etilmalonic etc., precum și a butiril-glicinei, izobutiril-glicinei, izovaleril-glicinei, octanoil-carnitinei etc.

d. Avitaminoza B₂ și teratogeneza

Se cunoaște faptul că avitaminoza B₂ la femei în perioada sarcinii determină producerea de malformații severe la făt. Noii-născuți prezintă multiple malformații scheletice cum ar fi diviziunea palatină, diminuarea oaselor lungi, micrognatie, fuziunea coastelor și degetelor etc. precum și hidrocefalie, leziuni oculare, malformații cardiace, hidronefroze și altele.

Incidența acestor malformații este extrem de crescută mai ales în administrarea de galactoflavină, un puternic antagonist al riboflavinei. Aceste constatări trebuie coroborate cu malformațiile din aciduria glutarică de tip II, afecțiune ereditară în care există un deficit generalizat al *acil-CoA-dehidrogenazelor* FAD-dependente.

Aceste observații demonstrează, o dată în plus, faptul că dezvoltarea embrionară normală necesită, printre altele, prezența tuturor factorilor ce

contribuie la integritatea proceselor metabolice mitocondriale și peroxisomale de utilizare a energiei.

3.2.9. Grupe de risc

Datorită faptului că riboflavina se găsește în cantități relativ crescute în principalele alimente, pentru indivizii cu o alimentație rațională, riscul apariției avitaminozei B₂ este destul de scăzut. Există, însă, o serie de persoane la care pot să apară simptome de hipo- sau avitaminoză, chiar dacă alimentele pe care le consumă conțin necesarul zilnic de riboflavină:

- subiecți cu anomalii ereditare ale metabolismului riboflavinei;
- femeile aflate sub efectul anticoncepționalelor orale;
- femeile în vârstă și cele care alăptează;
- diabeticii;
- alcoolicii cronici;
- subiecții cu insuficiență renală.

3.2.10. Antivitamine B₂

Antagoniștii riboflavinei pot fi substanțe înrudite structural cu aceasta, însă există substanțe cu activitate antivitaminică B₂ cu structură chimică total diferită. Cei mai importanți antagoniști analogi structural sunt dietilflavina, halogenflavinele și galactoflavina.

Mecanismele de acțiune ale acestora au la bază competiția cu cofactorii unor flavoenzime cum ar fi *xantinoxidaza* și *D-aminoacid-oxidazele*, inhibiția procesului de fosforilare a riboflavinei sau fosforilarea lor când se formează unii analogi ai FMN cu activitate biologică scăzută sau nulă. Aceste substanțe acționează ca antimetaboliți, cauzând simptomele deficienței de riboflavină.

Cele mai importante substanțe cu acțiune antagonistă vitaminei B₂ și cu structură diferită de cea a riboflavinei sunt unele substanțe antimalarice ca atebrina și chinina care inhibă competitiv enzimele flavinice, în special *citocrom-reductaza* și *D-aminoacid-oxidazele*. Eficiența acțiunii vitaminei B₂ scade considerabil atunci când aceasta se administrează în asocieri cu unele substanțe ce intervin în metabolismul riboflavinei: anticoncepționale orale, unele antibiotice (cum ar fi, de exemplu, tetraciclina, clortetraciclina, eritromicina, streptomycină etc.) sau unele medicamente (clorpromazina, fenotiazine și altele).

3.3. Vitamina PP (niacină, nicotinamidă, factor pelagro-preventiv, vitamina B₃)

3.3.1. Generalități

Termenul generic de vitamină PP sau niacină desemnează acidul nicotinic, amida sa (nicotinamida) precum și toți derivații acestora ce pot fi transformați *in vivo* în compuși biologic activi. Importanța biologică a niacinei constă, în primul rând, în faptul că ea reprezintă precursorul a doi cofactori implicați în majoritatea reacțiilor de oxidoreducere din organismul viu: NAD^+ și NADP^+ (Ababei și Trandafirescu, 1974).

Lipsa niacinei din alimente determină apariția unei boli grave – *pelagra* – care este o dermatită particulară, de lungă durată, însoțită de diaree, pierderea memoriei, halucinații, iar în cazurile grave demența (Brown et al., 1991; 2001).

Această boală a căpătat forme endemice în perioada 1929 – 1933 când, din cauza crizei economice, populația săracă din sudul SUA, Italia, Spania, țările balcanice și altele, folosea drept aliment de bază mălaiul. În țara noastră, această epidemie a cuprins în acea perioadă populația din Moldova, unul dintre polii sărăciei din România acelor ani.

Prima descriere a pelagrei a fost făcută încă la sfârșitul secolului XVIII, dar recunoașterea acestei boli ca boală carențială a fost făcută abia în perioada 1912 – 1915, când Goldenberg arată că pelagra poate fi prevenită printr-o alimentație adecvată (Boyonoski, 2002).

În aceeași perioadă, în încercările sale de purificare a factorului anti beri-beri, Funk reușește să izoleze acidul nicotinic. Trebuie remarcat faptul că acidul nicotinic a fost sintetizat pe cale chimică încă din 1867 de către Ruber, fără însă a i se cunoaște rolul biologic. Nici Funk nu face nici o legătură între acidul nicotinic și pelagră, dar arată efectul pozitiv al „vitaminei B” în tratarea acesteia.

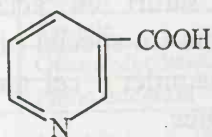
Numărul imens de victime ale pelagrei a determinat guvernele multor state să aloce fonduri însemnate în cercetarea etiologiei, profilaxiei și tratamentului acestei boli. Astfel, în 1916, serviciile medicale americane, convinge de natura nutritivă a pelagrei, recomandă adăugarea în rația alimentară a laptelui și ouălor (Park, 2000).

Ulterior s-a demonstrat că același efect pozitiv îl determină și ficatul, gemenii de grâu, drojdia de bere etc. După mai multe cercetări se izolează

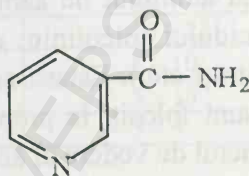
din ficat și drojdie un factor pelagro-preventiv (de unde și denumirea de vitamină PP) și se recunoaște efectul curativ al acidului nicotinic (Artenie, 1991).

3.3.2. Structura chimică și proprietățile vitaminei PP

Acidul nicotinic și amida sa au fost cunoscute ca substanțe chimice cu mult înainte de a se cunoaște rolul lor biologic. Din punct de vedere structural sunt derivați ai piridinei:

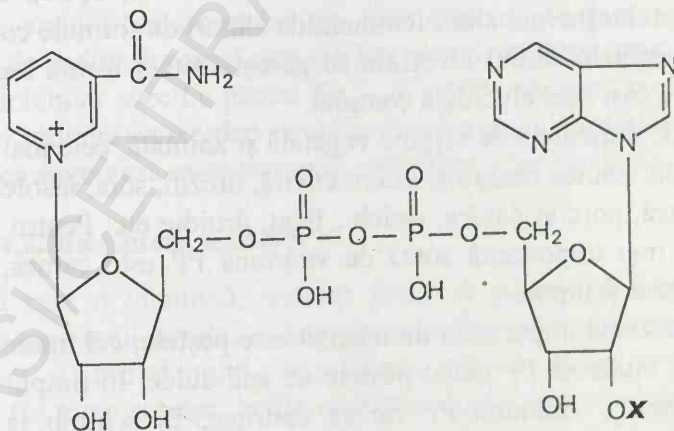


acid nicotinic



nicotinamidă

În organismele vii, nicotinamida se găsește preponderent sub forma a două nucleotide piridinice ce joacă rol coenzimatic, fiind implicate într-o multitudine de reacții de oxidare și reducere biologică: nicotinamid-adenin-dinucleotidul (NAD^+) și nicotinamid-adenin-dinucleotid-fosfatul (NADP^+):



Nicotina liberă este o substanță cristalină, incoloră, ușor solubilă în apă, alcool metilic și alcool etilic și greu solubilă în benzen și eter. În condiții normale este cea mai stabilă dintre toate vitaminele. La încălzire în soluții apoase în prezența glucozei formează complecși colorați în brun.

Acidul nicotinic este o substanță cristalină, solubilă în apă și alcooli la cald și insolubil în solvenți organici (acetonă, cloroform, eter etilic). Sărurile acidului nicotinic cu metale grele sunt insolubile, această proprietate stând la baza separării lor din amestecuri. Este stabil față de temperatură, lumină și față de acțiunea agenților oxidanți.

Prezența atomului de azot bazic în heterociclu piridinic determină capacitatea acidului nicotinic de a forma săruri cu acizii minerali (clorhidrați, nitrați etc.). Esterii acidului nicotinic (în special nicotinatul de metil și etil) sunt folosiți la prepararea nicotinamidei – cel mai important derivat din punctul de vedere al activității biologice.

3.3.3. Stare naturală

Deși nu se acumulează în organismele vii, acidul nicotinic și amida sa sunt larg răspândite în natură în cantități relativ mari, mai ales sub forma celor două coenzime piridin-nucleotidice, datorită importanței metabolice imense a acestora din urmă (*Jacobson and Jacobson., 1999*). În țesuturile animale se întâlnește mai ales nicotinamida alături de formele coenzimatică, iar în cele vegetale acidul nicotinic se găsește într-o formă legată a cărei structură nu a fost încă elucidată complet.

Dintre alimentele de origine vegetală și animală, cele mai bune surse de niacină sunt pâinea neagră și intermediară, orezul, soia, fasolea, mazărea, carnea de vacă, porc și pasăre, rinichi, ficat, drojdie etc. Pentru alimentația omului, cea mai importantă sursă de vitamină PP este carnea, în special ficatul, rinichiul și inima.

O altă sursă importantă de niacină este peștele, cel marin fiind mult mai bogat în vitamină PP decât peștele de apă dulce. În timpul procesului culinar (fierbere), vitamina PP nu se distruge, în schimb la măcinatul cerealelor o bună parte se pierde prin înlăturarea tărațelor. Vitamina B₃ este una dintre vitaminele cele mai răspândite, atât în alimentele de origine vegetală cât și în cele de origine animală (tabelul 3.6). Din această cauză, în condițiile unei diete normale, riscul unei avitaminoze PP este minor.

Tabelul 3.6

Conținutul în vitamină PP al unor produse alimentare

Nr. crt.	Sursa alimentară	mg vitamină B ₃ / 100 g
1	Drojdie de bere	35 – 40
2	Drojdie de panificație	30 – 35
3	Cafea	25 – 30
4	Ficat de miel	25 – 30
5	Arahide prăjite	15 – 20
6	Ficat de vițel	15 – 20
7	Carne de pui	12 – 15
8	Ton	10 – 12
9	Somon	10 – 12
10	Sardele	8 – 10
11	Orez nedecorticat	5 – 10
12	Pâine integrală	3 – 5

* L'Encyclopédie Médicale, Paris, 2003.

3.3.4. Metabolismul vitaminei PP

3.3.4.1. Absorbția intestinală

Absorbția vitaminei PP a constituit obiectul a numeroase cercetări, atât *in vivo* cât și *in vitro* pe intestin perfuzat de șobolan. Traversarea marginii în perie a enterocitului de către niacină se face rapid și este dependentă de sodiu. Procesul este inhibat de unii analogi structurali cum ar fi uabaina (inhibitor specific pentru Na^+ , K^+ -ATP-ază) sau de către scăderea concentrației sodiului care reduc semnificativ absorbția intestinală a vitaminei. Toate acestea sugerează existența unui mecanism specific de absorbție.

3.3.4.2. Biosinteza niacinei

Deși este o vitamină, niacina poate fi sintetizată într-o oarecare măsură în organismul omului și al altor mamifere prin utilizarea în calitate de precursor a triptofanului. Importanța acestei surse endogene este discutabilă. Cu toate acestea, bolile ereditare ale metabolismului triptofanului (de exemplu sindromul Hartnup) sunt însoțite întotdeauna de simptome ale carenței în niacină, ceea ce demonstrează rolul extrem de important al biosintezei endogene a niacinei în unele situații de malnutriție.

Biosinteza vitaminei PP, care este în același timp calea oxidativă de degradare a triptofanului, se realizează în hepatocite și eritrocite, fiind

absentă în creier. Este interesant faptul că în acest proces are loc biosinteza cofactorilor piridinici și nu a niacinei (fig. 3.7).

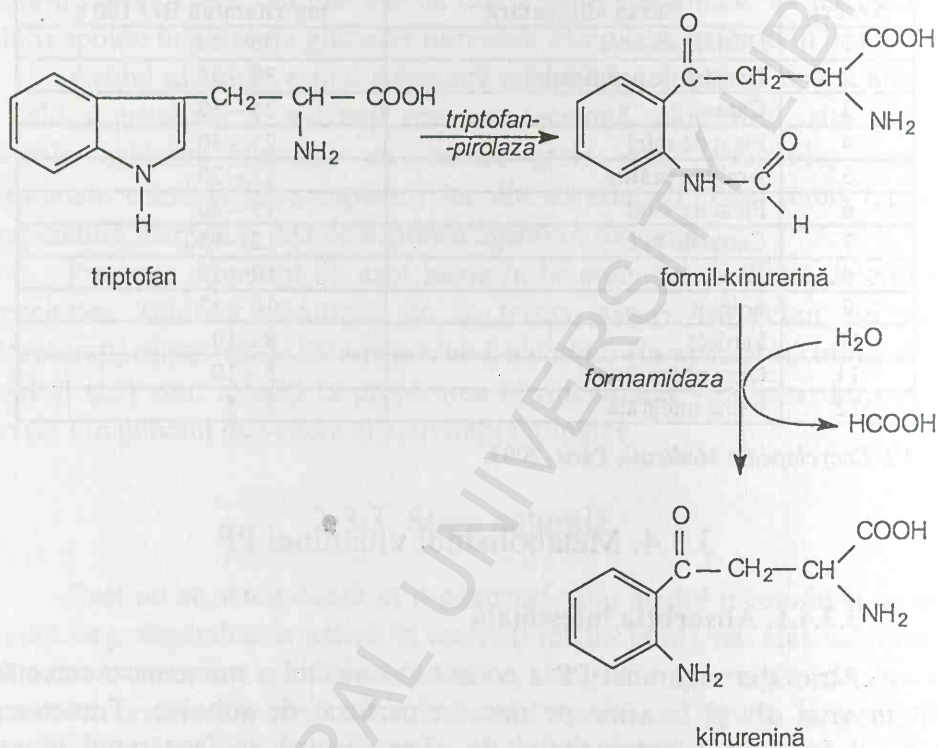


Figura 3.7. Conversia triptofanului în kinurenină (Dumitru, 1980).

În prima etapă a procesului are loc oxidarea triptofanului sub acțiunea *triptofan-pirolazei* sau *triptofan-oxigenazei*, cu formare de formil-kinurenină. Această enzimă conține nucleu porfirinic și are o viață scurtă ce poate fi prelungită în prezența substratului (triptofanul). Biosinteza *triptofan-pirolazei* se află sub control hormonal: corticosteroizii accelerează biosinteza enzimatică și, implicit, stimulează fluxul de triptofan pe această cale metabolică de producere a NAD(P)⁺.

De asemenea, activitatea triptofan-pirolazei este inhibată de produsul final al secvenței metabolice date. Formil-kinurenina formată în prima etapă este apoi supusă acțiunii *formamidazei* transformându-se în kinurenină.

În etapa următoare, sub acțiunea *kinurenin-3-hidroxilazei*, care este o enzimă NADPH-dependentă, se formează 3-hidroxikinurenina ce suferă apoi o scindare hidrolitică sub acțiunea *kinureninazei* când este clivată alanina și se formează acidul 3-hidroxi-antranilic (fig. 3.8).

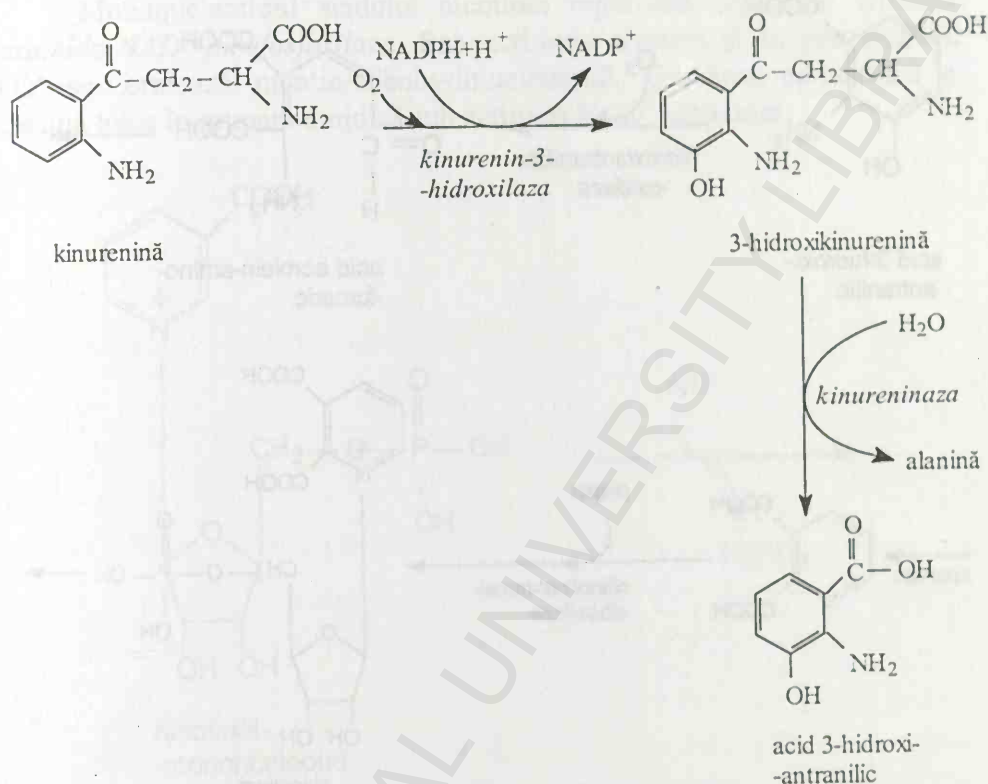


Figura 3.8. Implicarea coenzimelor piridinice în catabolismul kinureninei (Dumitru, 1980).

Kinurenina și hidroxikinurenina reprezintă puncte de intersecție metabolică în sensul că, în funcție de necesitățile organismului, secvența metabolică este dirijată fie în sensul formării niacinei, fie că se formează acid kinurenic, respectiv, acid xanturenic. Formarea acidului kinurenic și xanturenic se observă și în unele boli ereditare ce interesează metabolismul triptofanului, cauza principală constând într-o anomalie a apoenzimei *kinureninazei*.

Acidul hidroxiantranilic este oxidat sub acțiunea *3-hidroxiantranilat-oxidazei* cu formare de acid acroleilfumaric care apoi suferă o reacție de condensare spontană în urma căreia rezultă acidul kinolinic. Sub acțiunea *kinolinat-transribozilazei* și în prezența fosfo-ribozil-pirofosfatului (PRPP) se formează nucleotidul acidului kinolinic care, prin decarboxilare, trece în nucleotidul acidului nicotinic (fig. 3.9).

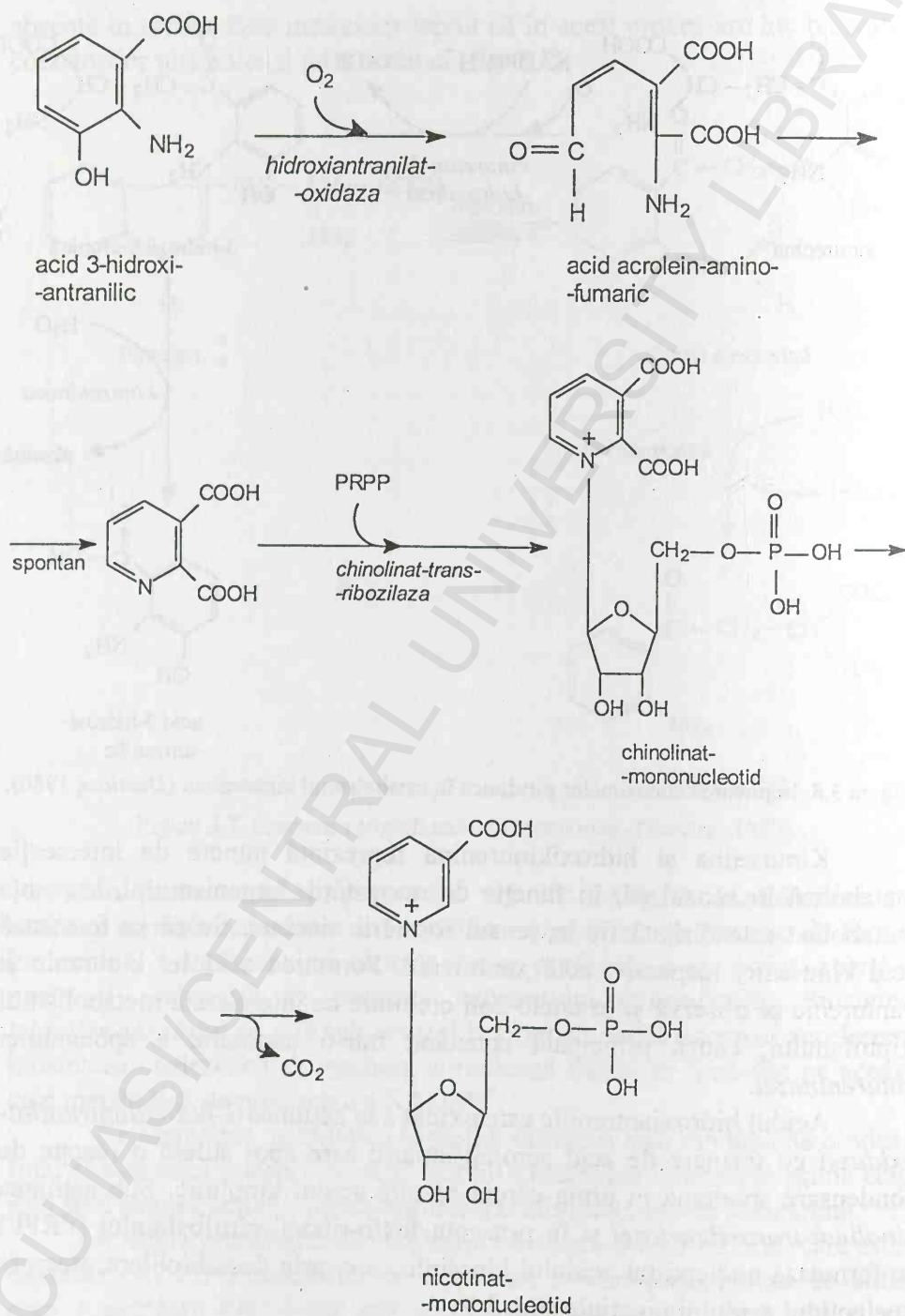
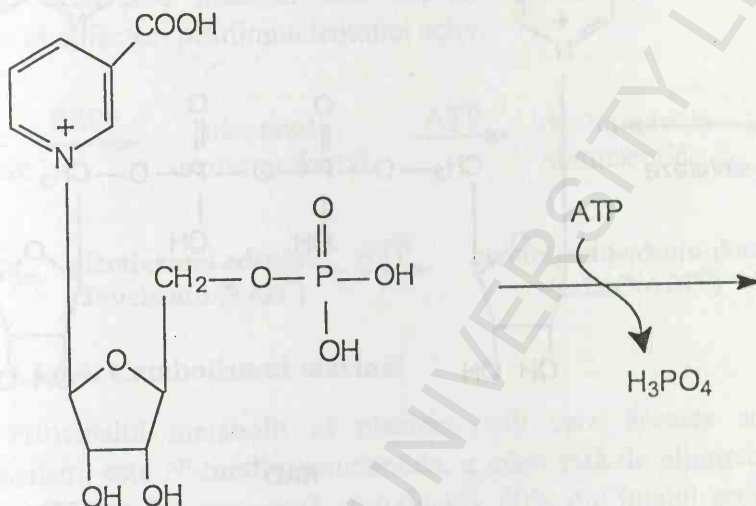
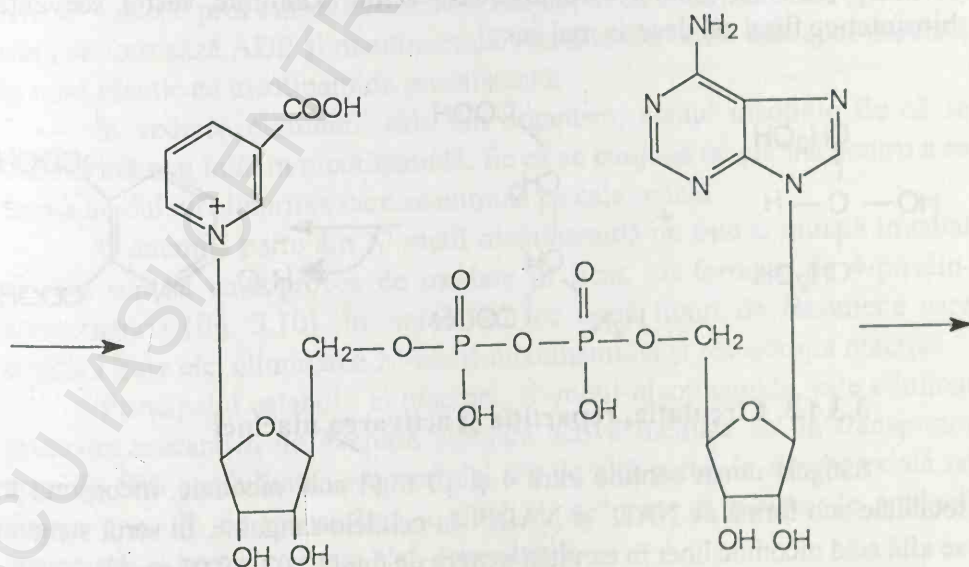


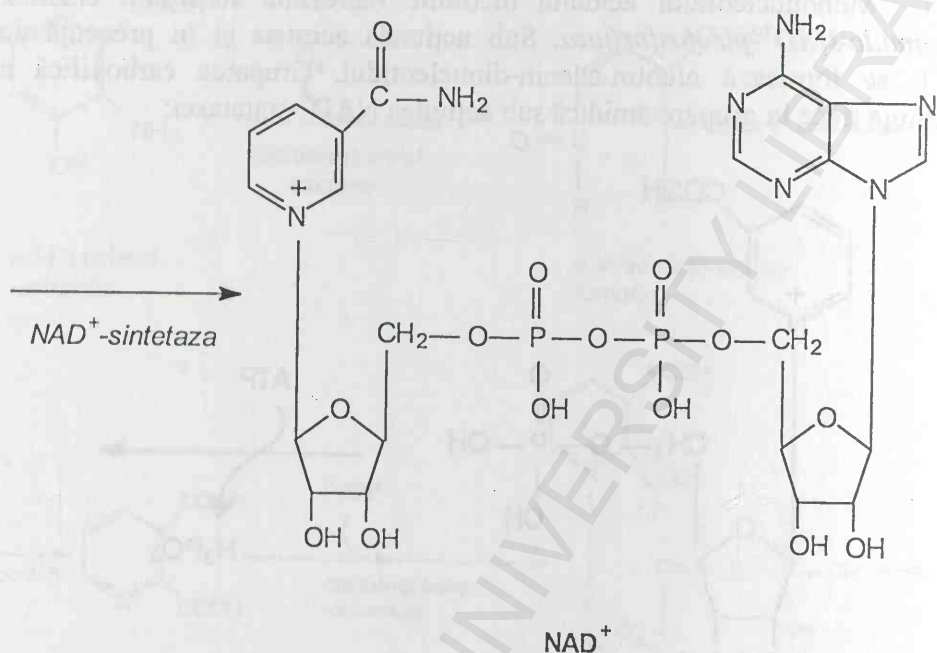
Figura 3.9. Etapa finală a biosintezei nicotinat-mononucleotidului.

Mononucleotidul acidului nicotinic reprezintă substratul enzimei *dezamido-NAD⁺-pirofosforilaza*. Sub acțiunea acesteia și în prezență de ATP se formează nicotin-adenin-dinucleotidul. Gruparea carboxilică a acestuia trece în grupare amidică sub acțiunea NAD⁺-sintetazei:

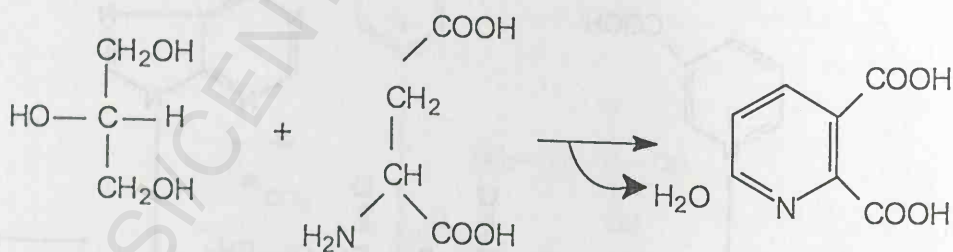


nicotinat-
-mononucleotid





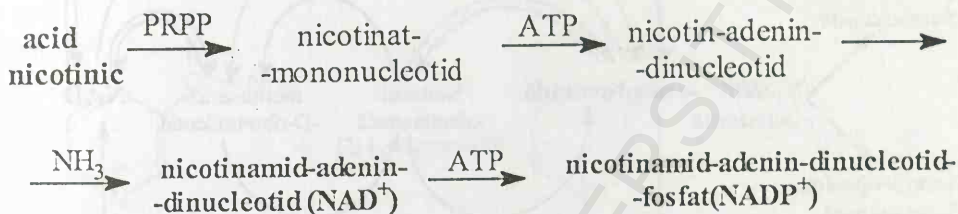
Biosinteza NAD⁺ mai poate avea loc și prin utilizarea nicotinamidei libere, provenită din alimente sau formată prin hidroliza NAD⁺-ului preexistent. La plante și unele bacterii biosinteza NAD⁺ poate pleca de la acidul aspartic și glicină care formează acidul kinolinic, restul secvenței biosintetice fiind cel descris mai sus:



3.3.4.3. Circulația, repartiția și activarea niacinei

Sângele uman conține între 4 și 10 mg/l acid nicotinic, încorporat în totalitate sub formă de NAD⁺ și NADP⁺ în celulele sanguine. În serul sanguin se află acid nicotinic liber în cantități extrem de mici (0,02 – 0,05 mg/l).

După absorbția intestinală, vitamina PP este vehiculată de fluxul sanguin către organe și țesuturi. Sub formă de NAD(P), niacina se găsește în toate țesuturile în cantități variabile de la un organ la altul. De exemplu, ficatul uman conține aproximativ 65 mg niacină în echivalent de acid nicotinic. Activarea niacinei este reprezentată de conversia acidului nicotinic în cofactori piridinnucleotidici activi:



3.3.4.4. Catabolismul niacinei

Principalul metabolit al niacinei, sub care aceasta se elimină din organism, este N'-metil-nicotinamida, a cărei rată de eliminare este de 5 – 8 mg/24 ore. Ea reprezintă aproximativ 60% din totalul produșilor de degradare a niacinei existenți în urină.

Niacina liberă se transformă în N'-metil-nicotinamidă prin metilare în prezență de S-adenozil-metionină, în timp ce catabolismul NAD^+ și NADP^+ începe prin hidroliza acestora sub acțiunea unor hidrolaze specifice, când se formează ADP și nicotinamidă. Aceasta din urmă este apoi metilată în mod identic cu nicotinamida preexistentă.

În vederea eliminării sale din organism, acidul nicotinic fie că se transformă mai întâi în nicotinamidă, fie că se conjugă cu glicina pentru a se forma acidul nicotinurinic care se elimină pe cale renală.

O anumită parte din N'-metil-nicotinamidă nu este eliminată imediat ci este supusă unui proces de oxidare în ficat, cu formare de 4-piridin-carboxamidă (fig. 3.10). În rinichi au loc două tipuri de fenomene care concură între ele: eliminarea N'-metil-nicotinamidei și reabsorbția niacinei.

Principalul catabolit al niacinei, N'-metil-nicotinamida, este eliminat printr-un mecanism de excreție tubulară activă mediată de un transportor specific fără posibilitatea reabsorbției. Pe de altă parte, în rinichi există un sistem specific de reabsorbție a niacinei, ce poate fi inhibat de analogii structurali ai acesteia și este Na^+ -dependentă.

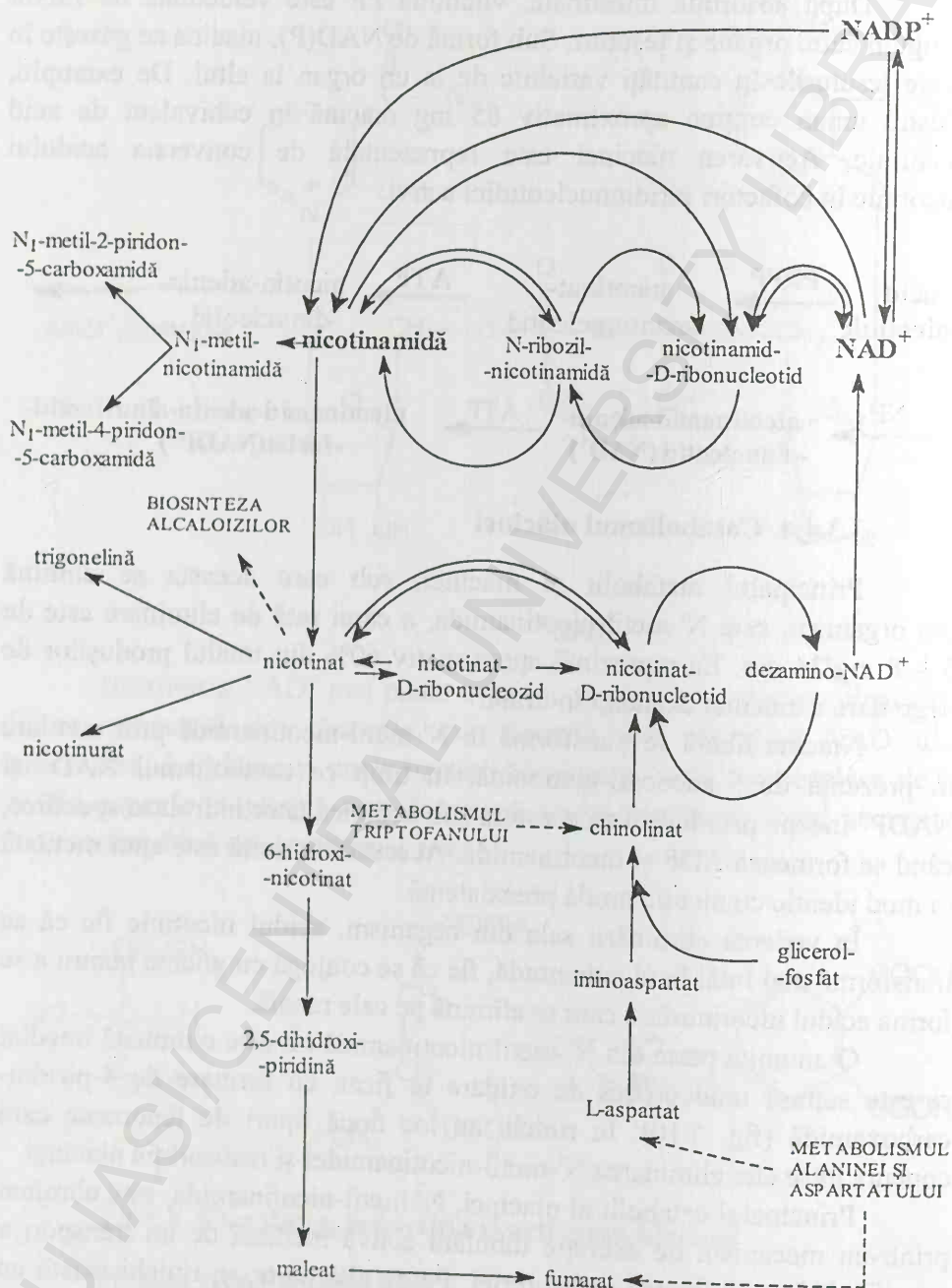
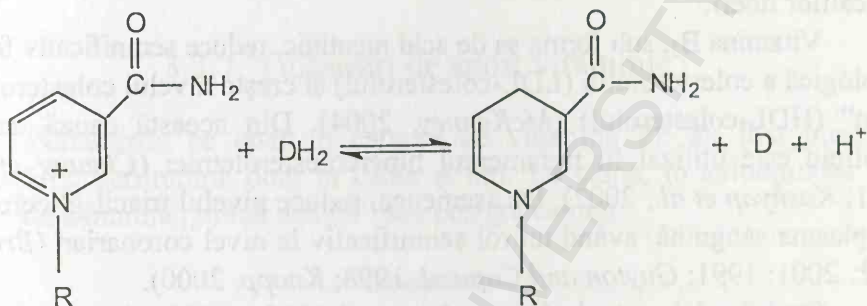


Figura 3.10. Interdependența căilor metabolice ale niacinei cu metabolismul intermediar (Metzler, 1997).

3.3.5. Rolul biologic al niacinei

Activarea niacinei conduce la cele două coenzime cu structură nucleotidică – NAD^+ și NADP^+ – a căror participare în sistemele de oxido-reducere constituie principala funcție biologică a vitaminei PP. NAD^+ și NADP^+ sunt implicați în marea majoritate a proceselor redox ce au loc în celula vie datorită capacității de oxidare reversibilă a nucleului piridinic:



sau:



În reacțiile de dehidrogenare a diferitelor substraturi, un atom de hidrogen al donorului se leagă de atomul C₄ al nucleului piridinic, iar celălalt atom, cedând electronul său în vederea neutralizării sarcinii pozitive a heterociclului, este eliminat în mediu sub formă de proton.

Din punctul de vedere al mecanismului de acțiune, precum și al modului de legare a NAD^+ și NADP^+ de apoenzimă, nu se poate spune că acești cofactori sunt grupări prostetice propriu-zise deoarece nu se realizează legături covalente puternice între acești cofactori și apoenzimele lor. NAD^+ și NADP^+ pot fi considerați, mai degrabă, cosubstrate ale enzimelor la care sunt asociați.

În principal, NAD^+ -ul este localizat intramitocondrial unde reprezintă acceptorul de hidrogen în principalele reacții de dehidrogenare din glicoliză, lipoliză, ciclul acizilor tricarboxilici etc. NADH -ul astfel produs constituie donatorul de electroni ce sunt transportați în catena respiratorie, în procesul de fosforilare oxidativă mitocondrială. În acest proces NADH -ul este reoxidat, se regenerează ATP -ul, iar oxigenul se reduce cu formare de apă.

NADP^+ -ul este localizat în citoplasmă. Sub forma sa redusă, el reprezintă principalul donator de hidrogen în reacțiile de transhidrogenare din

organism, de exemplu în biosinteza acizilor grași. După oxidarea în aceste reacții, NADP^+ trebuie să fie din nou redus. Această „reîncărcare” are loc în calea pentozaofosfaților când calea Embden-Meyerhoff-Parnas este saturată.

Vitamina B_3 manifestă o acțiune vasodilatatoare periferică, iar cercetări recente (Hageman et al., 1998; 2001) atestă faptul că niacina ar putea interveni în mecanismul reparării ADN-ului deteriorat datorită acțiunii radiațiilor ionizante, a unor substanțe toxice, a unor medicamente sau a radicalilor liberi.

Vitamina B_3 , sub forma sa de acid nicotinic, reduce semnificativ forma patologică a colesterolului (LDL-colesterolul) și crește nivelul colesterolului „bun” (HDL-colesterolul) (McKenney, 2004). Din această cauză, acidul nicotinic este utilizat în tratamentul hipercolesterolemiei (Cheung et al., 2001; Kashyap et al., 2002). De asemenea, reduce nivelul triacil-glicerolilor din plasma sanguină, având un rol semnificativ la nivel coronarian (Brown et al., 2001; 1991; Guyton and Capuzzi, 1998; Knopp, 2000).

Studiile elaborate de Canner între anii 1966 – 1975 privind influența niacinei asupra afecțiunilor coronariene au avut rezultate modeste, rata mortalității menținându-se ridicată, observându-se, totuși, o scădere cu 11% față de lotul martor (Canner et al., 1986).

Sub forma sa de nicotinamidă, vitamina PP reduce incidența diabetului insulino-dependent la copiii cu risc diabetogen, protejând celulele pancreasului față de acțiunea distructivă a macrofagilor (Greenbaum et al., 1996).

În fine, vitamina B_3 mai este utilizată în clinică pentru reducerea stării de dependență la alcoolici și fumători având, se pare, și acțiune anticancerigenă (Jacobson, 1993; Jacobson et al., 1999).

3.3.6. Necesarul de vitamină PP

În urma observațiilor clinice efectuate de-a lungul timpului s-a stabilit că necesarul minim de niacină care împiedică apariția pelagrei este de aproximativ 4,4 mg/1000 kcal. Pentru adulți, la care aportul caloric este de până la 2000 kcal/zi, se consideră optimă cantitatea de 9 mg niacină/zi. Experții OMS recomandă un aport zilnic de 6,6 mg/1000 kcal pentru adulți, cantitate ce trebuie majorată cu 2 mg la femeile însărcinate și cu 7 mg la cele care alăptează.

Din punct de vedere al necesarului de vitamină PP la nou-născut, se consideră că el primește prin laptele matern cantitatea necesară, nefiind

nevoie de o suplimentare în niacină, în cazul în care mamele nu prezintă fenomene de hipovitaminoză.

Studii medicale efectuate recent pe un număr mare de subiecți de diferite vârste au permis OMS să stabilească necesarul zilnic de vitamină PP, atât la subiecții de sex masculin, cât și la cei de sex feminin, precum și în cazul unor stări fiziologice aparte cum ar fi sarcina sau alăptarea (tabelul 3.7).

3.3.7. Tulburări de aport vitaminic

Tulburările ce apar în carența de vitamină PP au fost puse în evidență cu certitudine doar la câine și om. La câine, în avitaminoza PP apare boala numită „limbă neagră” sau pelagra canină.

Tabelul 3.7

Doza zilnică recomandată de vitamină PP în funcție de vârstă, stare fiziologică și sex*

Subiecți	Vârsta	Fete/Femei (mg echivalent de niacină/24 ore)	Băieți/Bărbați (mg echivalent de niacină/24 ore)
Nou-născuți	0–6 luni	2	2
Copii	7–12 luni	4	4
Copii	1–3 ani	6	6
Copii	4–8 ani	8	8
Adolescenți	9–13 ani	12	12
Adolescenți	14–18 ani	14	16
Adulți	Peste 19 ani	14	16
Femei însărcinate	Orice vârstă	18	—
Femei care alăptează	Orice vârstă	17	—

* OMS, 2003 (Freeman, 2004).

Simptomele acesteia cuprind leziuni ale pielii și mucoaselor, afecțiuni ale sistemului nervos central și periferic, degenerescență grasă hepatică etc. Vitaminoterapia conduce la dispariția acestor simptome (Brown, 2001).

Carența niacinică la om produce boala numită pelagră (lat. „*pelle*” = piele; „*agra*” = groasă), cauzată de o dietă deficitară sau de incapacitatea organismului de a absorbi fie niacina, fie triptofanul și care debutează prin

oboseală, pierderea poftei de mâncare, tulburări digestive, ulceratii echimatoase cutanate, modificări ale mucoaselor și uneori simptome de boli mentale (demență sau schizofrenie), iar în timp se instalează așa numita triadă a celor 3D: dermatită, diaree, demență. Boala se produce și ca urmare a tulburărilor gastrointestinale sau a alcoolismului. Simptomele clasice ale pelagrei sunt de trei tipuri: tulburări cutanate, digestive și neurologice.

Tulburări cutanate

În avitaminoza PP tulburările cutanate cuprind eriteme de culoare roșie, simetrice, ce apar pe extremități, pe față și, în general, pe toate zonele expuse la lumină. Mai apar edeme, inițial roșii, apoi descumate, pigmentate în brun care devin rugoase, atroifice. Concomitent are loc o vasodilatație și o keratinizare a epidermei cu tendința de a se desprinde de dermă. Rănile și excoriațiile agravează aceste tulburări.

Tulburări digestive

Se manifestă ca inflamații cronice ale mucoasei digestive, stomatită, glosită, gastrită, diaree abundentă însoțită deseori de hemoragie.

Tulburări psihiatrice

Includ delirul, halucinațiile și confuziile. Sper deosebire de tulburările cutanate și digestive, cele neurologice sunt, de regulă, rezultatul unor carențe multiple și nu sunt cauzate doar de avitaminoza PP.

Hipovitaminoza PP este întâlnită mai des în țările în care mălaiul constituie alimentul de bază al populației, dat fiind faptul că proteinele din boabele de porumb au un conținut scăzut în triptofan. În aceste cazuri însă, etiologia pelagrei este mult mai complexă, ea reprezentând rezultatul carenței similare în triptofan, niacină și piridoxină, aceasta din urmă fiind un factor necesar conversiei triptofanului în niacină. S-a constatat că în unele tumori carcinoide ale intestinului subțire, aproximativ 60% din triptofan se transformă în serotonină din care cauză el nu mai poate servi drept precursor în biosinteza de niacină endogenă. Această boală cu incidență minoră cedează la tratamentul cu vitamină PP.

În fine, există și unele boli ereditare ce afectează metabolismul triptofanului cum ar fi sindromul Hartnup. Această boală este o maladie genetică rară, recesiv autosomală, ce se caracterizează prin dermatite similare cu cele din pelagră, cu ataxie, înapoiere mintală și tulburări psihiatrice (delir). Boala este însoțită de aminoacidurie masivă (de aproximativ 10 ori

mai mare decât valoarea normală) ce interesează, în principal, aminoacizii mono-carboxilici. Aceste simptome răspund favorabil la vitaminoterapia de lungă durată.

3.3.8. Grupe de risc

În cazul vitaminei PP, grupele de risc, în ceea ce privește gradul de incidență a avitaminozei, sunt mult mai puțin numeroase:

- femeile care alăptează și femeile în vârstă;
- persoanele subnutrite;
- persoane care se droghează;
- alcoolicii cronici.

3.3.9. Sinergie

Eficacitatea tratamentului cu niacină crește considerabil atunci când acesta este asociat cu celelalte vitamine ale complexului B, cu magneziul și cu litiul.

3.3.10. Antivitamine PP

Antivitaminele PP cele mai bine studiate sunt unii analogi structurali ai acidului nicotinic și nicotinamidei. Mecanismul de acțiune al acestora are la bază concurența dintre nicotinamidă și antivitaminele PP în structura NAD^+ și NADP^+ când se formează pseudocoenzime piridin-nucleotidice lipsite de activitate biologică. Cele mai importante antivitamine PP sunt 3-acetil-piridina, 6-amino-nicotinamida, acidul 5-fluor-nicotinic, tiadizolul etc.

Hidrazida acidului izonicotinic (HIN) utilizată în tratamentul tuberculozei (*Rinifon*) are, de asemenea, activitate antivitaminică PP. Mecanismul de acțiune al acesteia se bazează pe proprietatea de a forma un complex inactiv cu piridoxal-fosfatul rezultând un oarecare deficit de vitamină B₆.

Una din consecințele acestei transformări o constituie blocarea procesului de biosinteză a nicotinamidei din triptofan prin inhibarea kinureninazei care este o enzimă piridoxal-fosfat-dependentă.

Apare în felul acesta un deficit de NAD(P)^+ tisular, dar și o activare a triptofan-oxigenazei care accentuează și mai mult acumularea de intermediari

(kinurenină) precum și eliminarea pe cale renală a acizilor kinurenic și xanturenic și a derivaților lor.

Alte hidrazide, cum ar fi carbidopa folosită în tratamentul bolii Parkinson, au o acțiune similară cu a HIN, dar mai puternică. În asemenea situații, eliminarea prin urină a produșilor de degradare a niacinei este redusă. Subiecții respectivi fac parte din categoria de risc, necesitând administrare de niacină în scop profilactic.

În cazul carenței grave în niacină se recomandă administrarea fracționată a unor doze de până la 300 – 500 mg/zi. Este interzisă, însă, administrarea intravenoasă a unor doze mai mari de 25 mg din cauza riscului de șoc anafilactic. Atât acidul nicotinic cât și nicotinamida determină o vasodilatație periferică de scurtă durată, în special în partea superioară a corpului.

Administrat în doze mari (aproximativ 3 mg/zi) acidul nicotinic manifestă un efect hipocolesterolemiant prin inhibarea biosintezei lipidelor și în special al colesterolului. Mecanismul acestei acțiuni este încă incomplet elucidat. Este posibil să aibă loc o inhibiție a lipolizei mediată de cAMP în țesutul adipos.

Într-o serie de observații clinice efectuate pe 8000 de subiecți s-a constatat că acidul nicotinic poate fi considerat a fi un agent hipolipemiant la fel de eficace ca și clofibratul, el putând reduce incidența infarctului miocardic. S-ar părea că este eficace în tratamentul hipercolesterolemiilor familiale. În doze foarte mari (5 g/zi) niacina poate manifesta efecte hepatotoxice: creșterea activității transaminazelor, bilirubinemie etc.

3.4. Acid folic (acid pteroilglutamic, vitamina B₄, vitamina M)

3.4.1. Generalități

Denumirea acestei vitamine provine din latinescul „*folium*” = frunză și este datorată faptului că acidul folic a fost obținut prima dată din frunzele de spanac. Autorii au obținut un factor capabil să stimuleze creșterea celulelor de *Lactobacillus casei*.

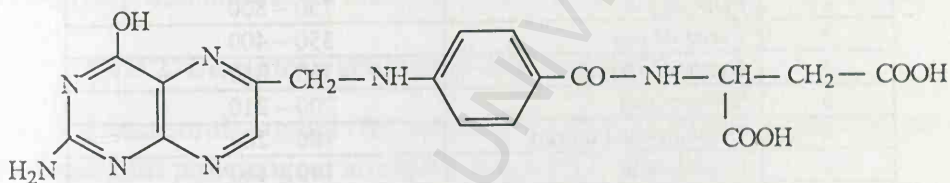
Cercetări ulterioare au arătat că există numeroși derivați ai acidului folic care prezintă acțiune vitaminică pentru organismul uman și animal. Unii dintre acești derivați diferă între ei prin numărul de resturi de acid

glutamic din moleculă, iar alții prin natura și numărul substituenților acidului ptereoic.

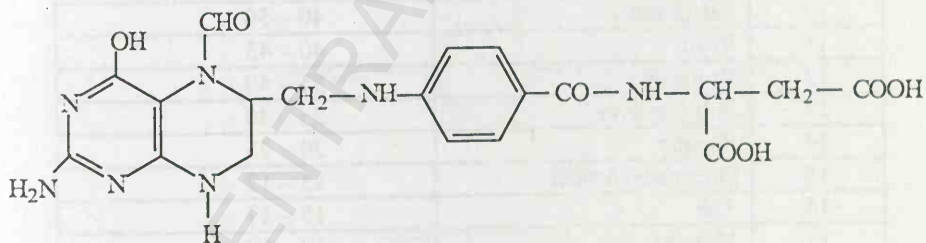
Mai târziu, acidul folic a fost extras și din ficat, drojdia de bere etc. Tot din drojdia de bere a fost izolat compusul numit „vitamina B₉ conjugată” care este acidul pteroilheptaglutamic.

3.4.2. Structura chimică și proprietățile acidului folic

În prezent, sunt cunoscute formulele chimice ale acidului folic și derivaților săi. Acidul folic, sau pteroilglutamic conține în molecula sa un radical de acid ptereoic, un rest de acid *p*-aminobenzoic și un radical glutamat. Forma activă a acidului folic este acidul 5-formil-5,6,7,8-tetrahidrofolic (FH₄ sau THF) denumit și *factor citrovorum*:



acid folic



acid formil-tetrahidrofolic (formil-THF)

Acidul folic este o substanță cristalină, de culoare galben-portocalie. Se descompune fără topire la 250°C, este solubil în apă și în soluții acide sau bazice.

3.4.3. Stare naturală

Acidul folic este relativ larg răspândit în natură, atât în țesuturile vegetale cât și animale. Dintre alimentele de origine vegetală cele mai bune

surse de acid folic pentru om sunt spanacul, broccoli, pâinea, morcovii, tomatele, fasolea, varza, unele fructe și sucuri etc., iar dintre alimentele de origine animală cele mai bune surse sunt ficatul, gălbenușul de ou, carnea de vițel, laptele etc. Sub formă sintetică acidul folic se găsește în diverse complexe vitaminice și în produsele alimentare fortifiante, ca pâinea sau fulgii de cereale cu conținut îmbogățit de vitamine.

Date recente din literatura de specialitate indică conținutul în acid folic al principalelor alimente utilizate în mod obișnuit de către om (tabelul 3.8).

Tabelul 3.8

Conținutul în acid folic (vitamină B₄) al unor produse alimentare*

Nr. crt.	Sursa alimentară	mg vitamină B ₄ / 100 g
1	Drojdie de bere	4000 – 4100
2	Ficat de pui	750 – 800
3	Carne de pui	350 – 400
4	Germenii de grâu	330 – 350
5	Spanac crud	200 – 210
6	Gălbenuș de ou crud	180 – 200
7	Ficat de vită	140 – 160
8	Mărar verde	100 – 110
9	Brânză de oaie	60 – 70
10	Salată verde	40 – 50
11	Roșii	40 – 45
12	Broccoli	35 – 40
13	Fulgii de ovăz	25 – 30
14	Banane	20 – 25
15	Orez nedecorticat	15 – 17
16	Țon	15 – 17
17	Morcov	10 – 12
18	Mușchi de porc, vită	10 – 15

* *L'Encyclopédie Médicale*, Paris, 2003.

3.4.4. Metabolismul acidului folic

În procesul de biosinteză a acidului folic de către microorganisme și plante au loc transformări tipice pentru fiecare etapă în parte, corespunzătoare biosintezei nucleului pteridinic, a acidului p-aminobenzoic, a acidului pterioic și a acidului folic în ansamblu. Pentru nici una din aceste etape, însă, nu sunt cunoscute pe deplin secvențele metabolice ce au loc.

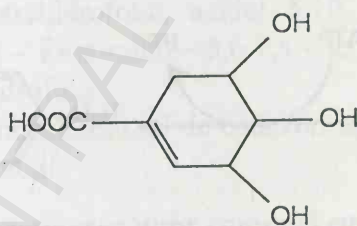
3.4.4.1. Biosinteza ciclului pteridinic

Acest proces are loc prin utilizarea în calitate de precursor a unui compus purinic sau un intermediar al metabolismului bazelor purinice. În cercetări efectuate pe *Crithidia fasciculata* s-a observat că 2,4,5-triamino-hidroxipirimidina poate înlocui biopterina ca factor de creștere. Totodată, s-a mai observat că adăugarea de purine la germenii de grâu accelerează procesul de biosinteză a acidului folic.

Cu ajutorul adeninei marcate s-a demonstrat că această bază azotată este încorporată în pteridine la specii ale genului *Corynebacterium*, iar extractele aceluare de *Escherichia coli* convertesc guanozina și guanozin-nucleotidele în acid folic. În fine, s-a mai arătat că 2-hidroxipurina și glioxalul dau reacție de condensare chimică la 37°C pentru a forma pteridina, postulându-se un mecanism asemănător și pentru sinteza *in vivo*.

3.4.4.2. Biosinteza acidului *p*-aminobenzoic

Precursorul comun în biosinteza acidului *p*-aminobenzoic și a aminoacizilor proteinogeni aromatici este acidul shikimic:



acid shikimic

Davis arată că acidul shikimic poate înlocui acidul *p*-aminobenzoic ca factor de creștere la *Escherichia coli* și alte microorganisme. În ultimul timp s-a stabilit că procesul de biosinteză a acidului *p*-aminobenzoic nu se realizează direct din acidul shikimic ci din shikimat-5-fosfat și glutamină și are loc cu consum de energie din ATP.

3.4.4.3. Biosinteza acidului pteric și acidului folic

S-a demonstrat că, într-un mediu conținând *p*-aminobenzoil-glutamat și 2-amino-4-hidroxipteridin-6-carboxialdehidă, extractele aceluare de

Escherichia coli pot sintetiza acidul folic și că acest proces necesită prezența ATP-ului, NADH-ului și ionilor de Mg^{2+} .

Date experimentele similare au fost obținute și cu alte culturi microbiene. S-a postulat existența unui intermediar pirofosforilat al pteridinei ca precursor imediat în reacția de condensare cu *p*-aminobenzoil-glutamatul.

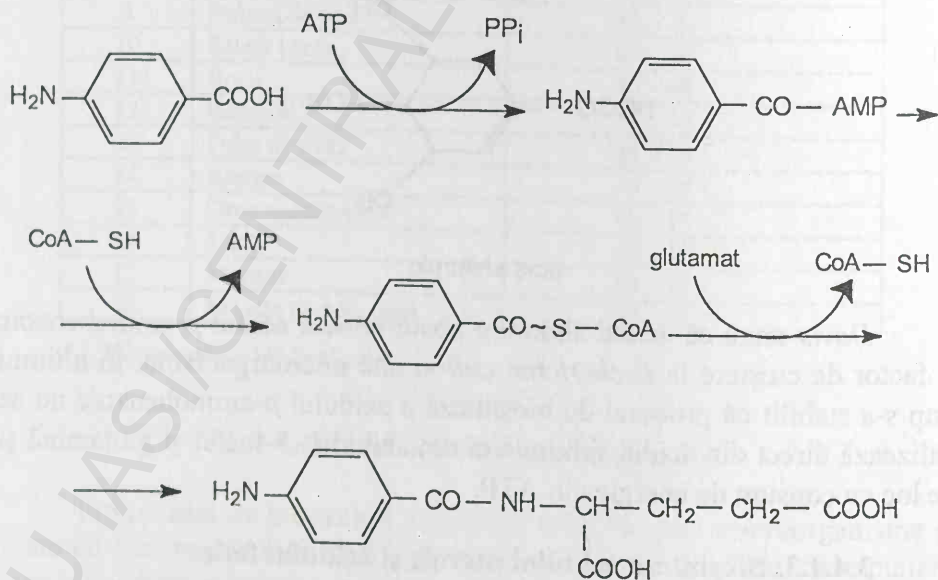
La rândul lui, *p*-aminobenzoil-glutamatul este sintetizat în prezența ATP-ului și a coenzimei A cu formarea unui intermediar.

În extractele de *Lactobacillus plantarum* și *Escherichia coli* s-a demonstrat următoarea secvență din calea de biosinteză a acidului folic:

- 1) pteridină redusă + *p*-aminobenzoat + ATP + Mg^{2+} → acid pterioic
- 2) acid pterioic + glutamat → acid folic

În aceleași extracte s-a obținut acidul folic și atunci când s-a folosit *p*-aminobenzoil-glutamatul în calitate de precursor.

Din punctul de vedere al catabolismului acidului folic, se pare că molecula acestuia este scindată în unitățile sale componente, acest lucru fiind confirmat și de prezența în urină a xantopterinei ca produs de degradare a restului pteridinic.



p-aminobenzoil-glutamat

3.4.5. Rolul biologic al acidului folic

Acidul folic îndeplinește numeroase funcții în organismul uman, multe dintre ele nefiind îndeajuns de bine studiate. Cercetări recente arată faptul că administrarea de vitamină B₄ la femeile ce utilizează în mod frecvent anticoncepționale diminuează drastic riscul apariției cancerului de col uterin, iar la fumătorii înrăiți, scade semnificativ riscul cancerului pulmonar. Carența în acid folic determină acumularea în sânge a homocisteinei care, la rândul ei, provoacă leziuni vasculare, ceea ce conduce la o creștere considerabilă a riscului apariției bolilor cardio-vasculare.

Suplimentarea dietei cu vitaminele B₄, B₆ și B₁₂ reduce acest risc cu peste 64%.

Se pare, de asemenea, că acidul folic menține echilibrul mental și stimulează fertilitatea atât la bărbați cât și la femei. Principala funcție a acidului folic o reprezintă participarea sa, în calitate de coenzimă, în reacțiile de transfer a grupelor „C₁” (fig. 3.11).

Principalele coenzime derivate de la acidul tetrahidrofolic (notat prescurtat THF sau FH₄), implicate în diferite secvențe ale metabolismului intermediar, sunt: acidul 5 – formil – 5,6,7,8 – tetrahidrofolic, acidul 10 – formil – 5,6,7,8 – tetrahidrofolic, acidul 5,10 – metilen – 5,6,7,8 – tetrahidrofolic, acidul 5 – formimino – 5,6,7,8 – tetrahidrofolic și acidul 5 – metil – 5,6,7,8 – tetrahidrofolic.

Acești derivați îndeplinesc rol de cofactori ai enzimelor ce catalizează următoarele tipuri de reacții:

a. Formarea și activarea unor compuși conținând fragmente C₁

Printre acestea se numără activarea acidului formic prin formarea N₁₀-formil-tetrahidrofolatului, activarea formaldehidei când se formează N₅,N₁₀-metilentetrahidrofolatul, transferul grupării formimino de la formimino-glicină la acidul glutamic cu formarea în calitate de intermediar a N₅-formimino-tetrahidrofolatului etc.

b. Interconversia acizilor „C₁”-folici

Dintre reacțiile mai importante din acest punct de vedere putem menționa transformarea N₅-formimino-tetrahidrofolatului în N₅,N₁₀-metilen-tetrahidrofolat, conversia acidului N₅-formil-tetrahidrofolic în acid N₁₀-formil-tetrahidrofolic, oxidarea N₅,N₁₀-metilen-tetrahidro-folatului în N₅,N₁₀-metilen-tetrahidrofolat etc.

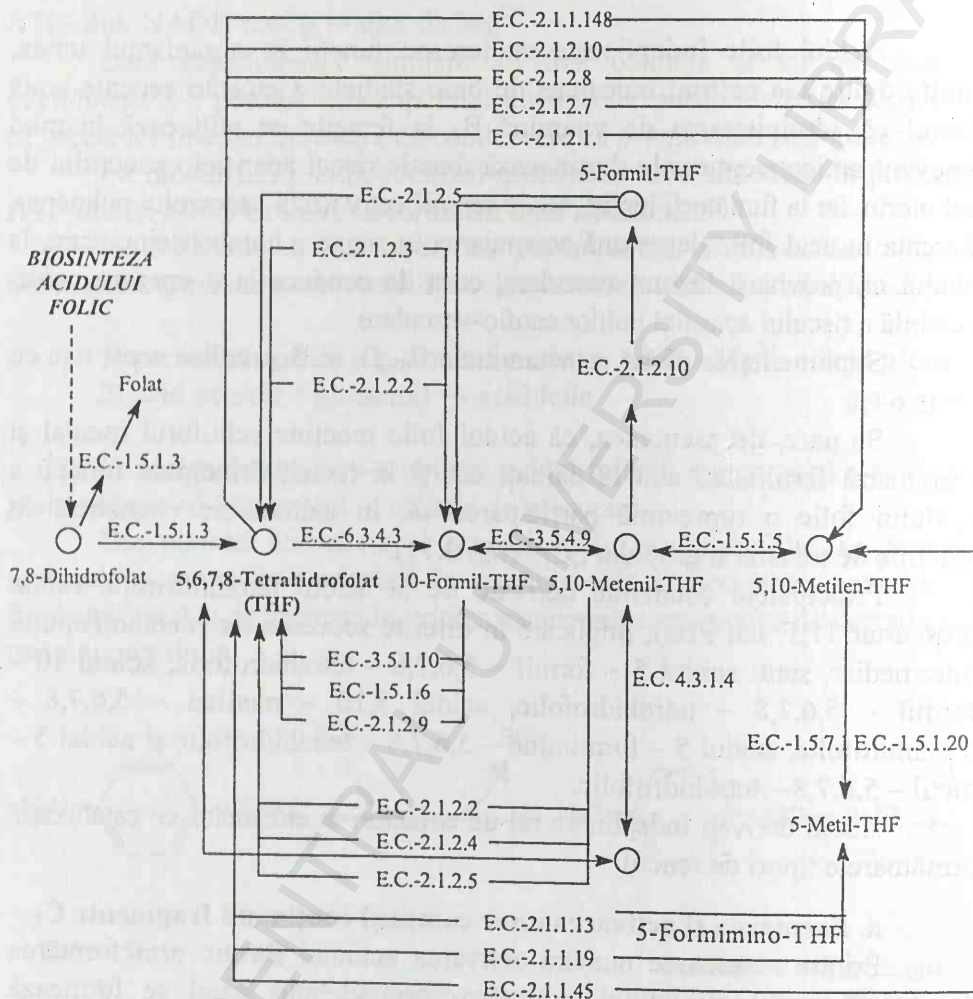


Figura 3.11. Principalii derivați ai acidului folic implicați în reacțiile de transfer ale grupelor „C₁” (Metzler, 1997).

c. Transferul fragmentelor „C₁”

În aceste reacții, acidul tetrahidrofolat este acceptorul temporar al fragmentelor „C₁” pe care le cedează apoi acceptorului final. Cel mai adesea sunt transferate grupări formil, metil, hidroximetil și altele, reacțiile fiind catalizate de transferaze specifice. Astfel, *formiltransferazele* catalizează formilarea glicinamid-ribonucleotidului și a aminoimidazol-carboximin-ribonucleotidului din biosinteza nucleotidelor purinice, în timp ce *hidroximetil-*

transferazele intervin în interconversia serină-glicină (vezi „Acidul lipoic”), iar *metil transferazele* participă la biosinteza metioninei.

Datorită rolului metabolic extrem de important pe care îl joacă coenzimele derivate de la tetrahidrofolat, acidul folic previne anomaliile tubului neural la făt și apariția cancerului cervical și de colon, protejează creierul și intervine în procesul de creștere și în hematopoieză.

S-a observat că 15 până la 38% dintre adulții suferinzi de depresie prezintă un nivel scăzut de acid folic în sânge. Într-un experiment recent, efectuat asupra a 20 de pacienți cu afecțiuni depresive, de vârstă medie, un tratament cu 50 mg metil-folat pe zi a avut ca rezultat la 81% din cazuri un răspuns pozitiv în șase săptămâni. Administrarea unui supliment de 15 mg metil-folat/zi, în completarea tratamentului cu antidepresive standard, are de asemenea efect pozitiv.

Displazia cervicală (apariția unor celule anormale la suprafața cervixului) poate evolua în cancer de col uterin, dacă este netratată. Din fericire, însă, ea este ușor de detectat prin testul Papanicolau și se tratează eficient prin suplimentarea cu folat (0,8 – 3 mg/zi).

Cercetări efectuate la Școala Medicală Harvard au arătat că femeile care și-au asigurat 0,4 mg sau mai mult de acid folic pe zi pe o perioadă de cel puțin 15 ani prezintă un risc de 4 ori mai mic de a dezvolta un cancer al colonului față de femeile cu o rație zilnică de 0,2 mg sau mai puțin. Multe femei aflate la menopauză au un nivel ridicat de hemocisteină, despre care se crede că ridică riscul de osteoporoză; suplimentarea cu acid folic poate micșora aceste nivele.

Cercetări relativ recente au arătat faptul că acidul folic are rol important în asigurarea replicării corecte a ADN-ului. Nu este, deci, surprinzător faptul că lipsa acidului folic este asociată cu o gamă largă de afecțiuni, de la boala lui Alzheimer la ateroscleroză, atac de cord, osteoporoză, demență, pierderea auzului, anemie megaloblastică etc. (*Hawkes and Villota, 1989*).

Lista bolilor ale căror cauze includ lipsa de acid folic este în continuă creștere, ca și dovezile că cele mai multe dintre aceste boli pot fi evitate sau vindecate prin suplimente. De exemplu, pacienții cu boli renale terminale au nivelul de hemocisteină extrem de ridicat și pot fi protejați de evenimente cardiovasculare prin suplimentarea cu acid folic și vitaminele B₆ și B₁₂.

Pacienții bolnavi de diabet au, de asemenea, hemocisteinuria ridicată, acidul folic intervenind cu succes. Acidul folic participă la sinteza adeninei și tiaminei, baze azotate care intră în componența genelor, ADN-ului și a cromozomilor.

3.4.6. Necesarul de acid folic

Stabilirea necesarului zilnic de acid folic la om se face extrem de dificil, pe de o parte datorită faptului că această vitamină este întâlnită în marea majoritate a alimentelor de origine vegetală și animală, iar pe de altă parte deoarece flora microbiană intestinală asigură cantități relativ mari de acid folic. Cu toate acestea, la adulți se consideră ca fiind necesar un aport zilnic de 0,5 – 1,0 mg, iar în perioada de sarcină sau de alăptare de circa 10 ori mai mare.

Femeilor cu risc crescut de a avea un copil cu spina bifidă li se recomandă 4 mg de acid folic/zi, pe o perioadă de 1–3 luni înainte de începerea sarcinii. Controale efectuate prin sondaj și studii științifice arată faptul că, dacă toate femeile ar face o cură de multivitamine conținând acid folic, incidența anomaliilor tubului neural ar fi reduse cu până la 75%. Ultimele recomandări ale OMS prevăd doze zilnice necesare cuprinse între 65 și 500 μg acid folic (tabelul 3.9).

Tabelul 3.9

Doza zilnică recomandată de vitamină B₄ în funcție de vârstă, și sex*

Subiecți	Vârsta	Fete/Femei (μg acid folic/24 ore)	Băieți/Bărbați (μg acid folic/24 ore)
Nou-născuți	0–6 luni	65	65
Copii	7–12 luni	80	80
Copii	1–3 ani	150	150
Copii	4–8 ani	200	200
Adolescenți	9–13 ani	300	300
Adolescenți	14–18 ani	400	400
Adulți	Peste 19 ani	400	400
Femei însărcinate	Orice vârstă	600	—
Femei care alăptează	Orice vârstă	500	—

* OMS, 2003 (Freeman, 2004).

Datele din literatură referitoare la necesarul zilnic de acid folic diferă însă de la sursă la sursă. Acest lucru s-ar putea explica prin obiceiurile culinare ale fiecărui popor în parte. Astfel, datele publicate de *L'Encyclopédie Médicale* (Paris, 2003) se referă la necesarul zilnic de vitamina B₄ pentru populația Franței, acestea fiind ușor diferite de recomandările OMS (tabelul 3.10).

Tabelul 3.10

Necesarul de acid folic pe categorii de vârstă în Franța*

Subiecți	Vârsta	Necesar zilnic μg /24 ore
Nou-născuți	0 – 1 an	70
Copii	1 – 3 ani	100
Copii	4 – 6 ani	150
Copii	7 – 9 ani	200
Copii	10 – 12 ani	250
Adolescenți	13 – 15 ani	300
Adolescenți	16 – 19 ani	330
Adolescente	13 – 19 ani	300
Bărbați	Peste 19 ani	330
Femei	Peste 19 ani	300
Femei de vârstă a III-a și cele care alăptează		400

* L'Encyclopédie Médicale, Paris, 2003.

3.4.7. Tulburări de aport vitaminic

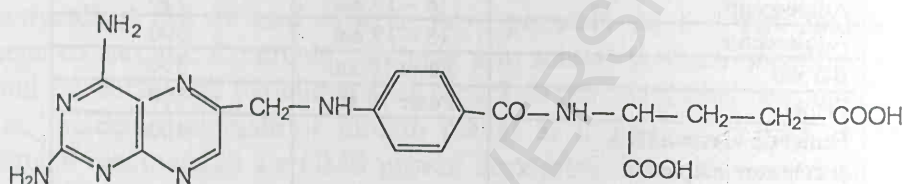
La animalele de laborator, carența de acid folic poate fi provocată fie printr-o dietă adecvată, fie prin administrarea de sulfamide care distrug flora microbiană a tractului digestiv producătoare de acid folic. Principalele simptome ale avitaminozei constau în tulburarea creșterii la organismele tinere și dereglarea hematopoiezei care determină anemia hipercromă macrocitară.

3.4.8. Substanțe cu acțiune antagonistă acidului folic

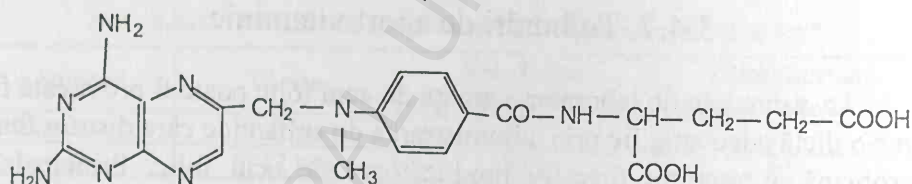
Substanțele cu acțiune antagonistă acidului folic sunt compuși cu o structură chimică diferită, unii dintre ei fiind foarte importanți din punct de vedere terapeutic. Astfel, sulfamidele larg utilizate în medicină sunt substanțe care intervin în procesul de biosinteză a acidului folic blocând unele etape ale căilor biosintetice.

Multe substanțe înrudite structural cu acidul folic prezintă o puternică acțiune antivitaminică, în special datorită faptului că ele pot forma complecși pseudoenzimatici, înlocuind coenzima în enzimele folat-dependente.

Cele mai cunoscute substanțe din această categorie sunt unii derivați ai pirimidinei (5-nitrouracil), derivați purinici (cum ar fi de exemplu 2,4-diaminopurina), derivați pteridinici (2,4 - diamino - 6,7 - difenil-pteridina), pteroil-derivații unor aminoacizi (de exemplu acidul pteroil-aspartic), unii derivați alchilați ai pteroilglutamatului (N₁₀-metil-pteroil-glutamatul) precum și unii derivați obținuți prin substituție la nucleul pterinic (de exemplu, 4-amino-pteroil-glutamatul). Dintre acești antagoniști omologi structurali, cei mai utilizați în practica medicală sunt aminopterina și metotrexatul.



aminopterina



metotrexat

3.5. Acidul pantotenic (vitamina B₅) și coenzima A

3.5.1. Generalități

Pentru prima dată, acidul pantotenic a fost identificat în 1931 de către *J. Williams* în experiențele sale referitoare la factorii de creștere ai anumitor specii levuriene. În același timp este descrisă o dermatită la bovine, asemănătoare cu cea din pelagră care nu cedează la niacină.

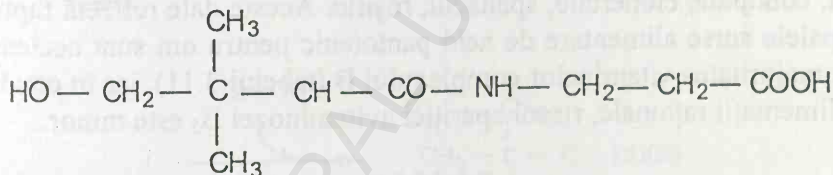
Ulterior s-a stabilit că în ficatul de porc există un factor eficient în combaterea și prevenirea acestei dermatite la găini și bovine, dar nu și la șobolani, fiind numit „factor antidermatitic pentru găini”.

Cercetările ulterioare au demonstrat că acest factor poate fi întâlnit în aproape toate celulele vii studiate din care cauză a primit numele de acid pantotenic (în limba greacă „παντοθεν” înseamnă „de peste tot”). În 1939 – 1940 s-a stabilit că atât „factorul antidermatitic” cât și acidul pantotenic în mediu alcalin se inactivează prin scindarea alaninei. În același timp este descifrată structura chimică și se realizează sinteza chimică a acidului pantotenic.

Identificarea în 1951 de către *Lynen* a coenzimei A a însemnat o contribuție extrem de importantă atât în studiul rolului biologic al acestei vitamine cât și în studiul metabolismului intermediar și al rolului central jucat de acetyl-CoA.

3.5.2. Structura chimică și proprietățile acidului pantotenic

Din punct de vedere structural, vitamina B₅ este acidul 3-(2,4- dihidroxi-3,3-dimetil butiramido)-propanoic:



După cum rezultă din formula chimică, molecula acidului pantotenic este formată dintr-un rest de acid pantoic și un rest de β-alanină legate între ele printr-o legătură amidică. În organismele animale, vitamina B₅ se întâlnește și sub formă de pantotenol, în care gruparea carboxilică a restului de β-alanină este înlocuită cu o grupare hidroximetil (-CH₂-OH).

Acidul pantotenic este o substanță uleioasă, higroscopică, optic activă. Amestecul racemic are aceleași proprietăți fizico-chimice și același grad de stabilitate ca și forma naturală care este izomerul dextrogir, singurul ce prezintă activitate biologică.

Este ușor solubil în apă și acid acetic, puțin solubil în alcooli și insolubil în solvenți organici de tipul benzenului, tetraclorurii de carbon sau cloroformului. În mediu slab acid (pH = 5,5 – 7,0) acidul pantotenic este stabil, dar în mediu alcalin și acid, precum și la încălzire este instabil.

Sarea de calciu a acidului pantotenic este o substanță cristalizată, de culoare albă, solubilă în apă, glicerină și acid acetic glacial și insolubilă în benzen și cloroform. Pantotenolul, care este provitamina acidului pantotenic, este o substanță uleioasă (izomerul dextrogir) sau cristalină (amestecul racemic), foarte solubil în apă și glicerină. În soluții apoase prezintă o stabilitate mai mare decât acidul pantotenic și sarea sa de calciu.

3.5.3. Stare naturală

Acidul pantotenic este extrem de răspândit în natură, fie sub formă liberă, fie sub forma sa activă de coenzimă A. Extrem de bogată în acid pantotenic este drojdia de bere. Dintre alimentele de origine animală, cele mai bune surse de acid pantotenic sunt organele în care metabolismul este extrem de intens: ficatul de vită, ficatul de oaie și porc, rinichii, gălbenușul de ou, carnea de porc, somonul (și, în general, peștele oceanic) etc.

Alimentele de origine vegetală au, în general, un conținut ridicat în acid pantotenic. Cele mai bune surse vegetale de vitamină B₅ sunt: pâinea neagră, conopida, ciupercile, spanacul, roșiile. Aceste date reflectă faptul că principalele surse alimentare de acid pantotenic pentru om sunt aceleași ca pentru majoritatea vitaminelor complexului B (tabelul 3.11), iar în condițiile unei alimentații raționale, riscul apariției avitaminozei B₅ este minor.

Tabelul 3.11

Conținutul în acid pantotenic al unor produse alimentare*

Nr. crt.	Sursa alimentară	mg vitamină B ₅ / 100 g
1	Drojdie de bere	12 – 14
2	Ficat de vițel	8 – 10
3	Ficat de porc	6 – 8
4	Gălbenuș de ou	4 – 5
5	Arahide	2 – 3
6	Spanac	2 – 3
7	Ciuperci	1,7 – 2
8	Somon	1,5 – 2
9	Orez nedecorticat	1,5 – 2
10	Pâine neagră	1,2 – 1,5
11	Conopidă	0,8 – 1
12	Roșii	0,4 – 0,6

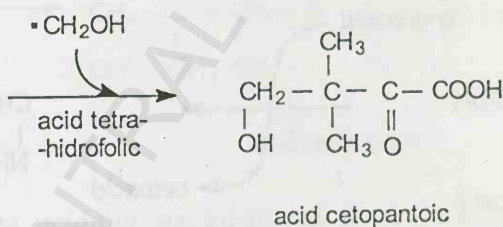
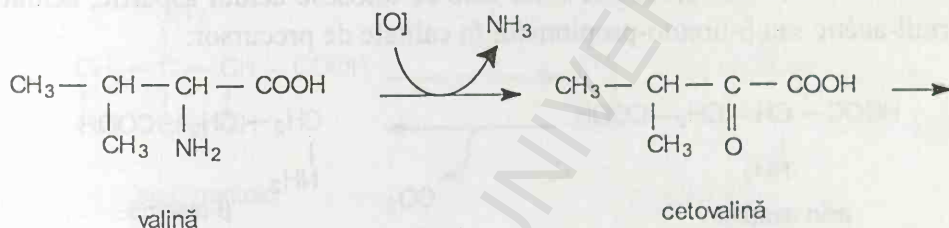
* L'Encyclopédie Médicale, Paris, 2003.

3.5.4. Metabolismul acidului pantotenic

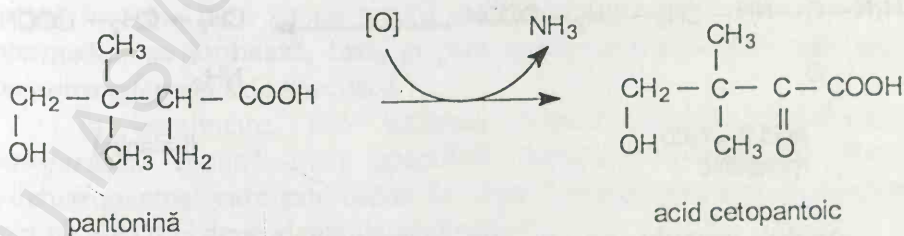
3.5.4.1. Biosinteza acidului pantotenic

Pentru om și majoritatea animalelor, acidul pantotenic este esențial. Această vitamină poate fi, însă, sintetizată de unele microorganisme cum ar fi unele specii aparținând genurilor *Corynebacterium*, *Acetobacter*, *Clostridium* etc.

Biosinteza acidului pantotenic utilizează în calitate de precursori valina și cetovalina pentru formarea acidului pantoic, iar acidul aspartic, semialdehida malonică și/sau uracilul reprezintă precursorii β-alaninei:

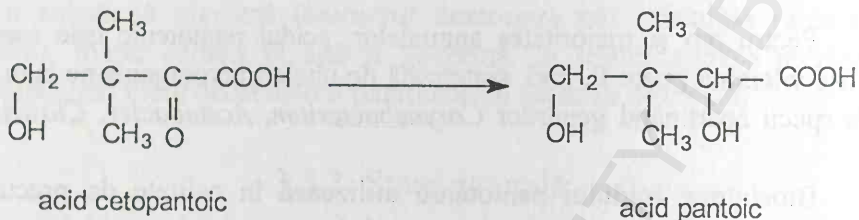


S-a demonstrat că acidul pantoic poate fi sintetizat și din pantonină. *Ackermann* evidențiază această transformare la unele bacterii:

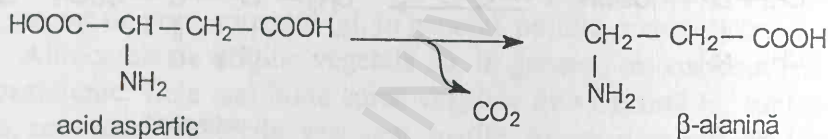


Indiferent de precursorul utilizat, acidul cetopantoic este redus cu formare de acid pantoic. În celulele bacteriene a fost identificată enzima

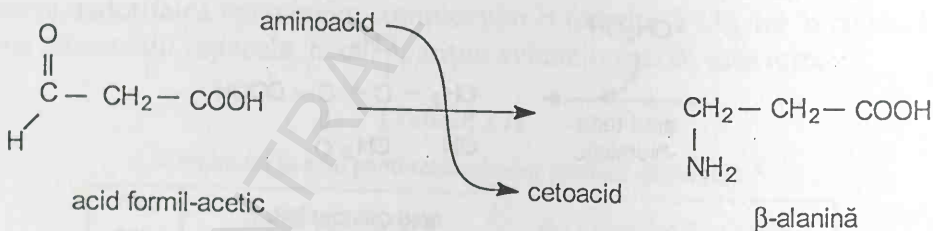
specifică ce catalizează această transformare, dar nu este cunoscută natura coenzimei:



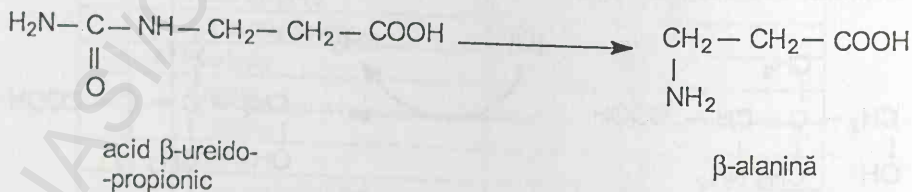
În ceea ce privește biosinteza β -alaninei, se cunosc mai multe căi metabolice, cele mai probabile fiind cele ce folosesc acidul aspartic, acidul formil-acetic sau β -ureido-propionatul în calitate de precursor:



sau:



și, în fine:

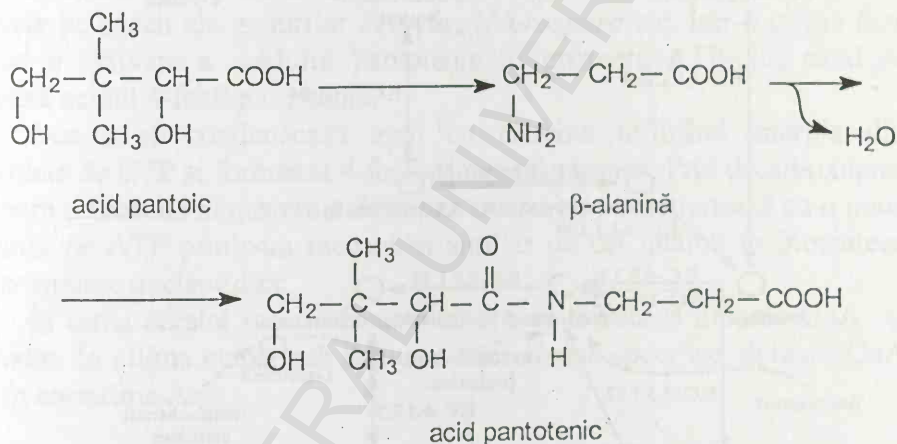


Acidul aspartic este convertit în β -alanină de către *aspartat-decarboxilază*, o enzimă pridoxal-5'-fosfat-dependentă. Roberts arată faptul că, în organismele animale există o *aminotransferază* ce catalizează reacția

de transaminare dintre acidul glutamic și semialdehida malonică, cu formare de β -alanină. La rândul ei, semialdehida malonică poate fi sintetizată din acid propionic.

La unele specii de *Clostridium* a fost pusă în evidență o cale de biosinteză a β -alaninei din uracil, fiind izolați dihidrouracilul și ureidopropionatul ca intermediari ai acestei secvențe. Tot la *Clostridium* a fost descoperită o enzimă capabilă să convertească propionil-CoA în β -alanină prin intermediul acrilil-CoA. Acest intermediar este important și pentru biosinteza carnozinei și a serinei.

Etapă finală a biosintezei acidului pantotenic o constituie condensarea acidului pantoic cu β -alanina, în prezență de ATP:



Biosinteza acidului pantotenic și a coenzimei A este un proces complex al metabolismului intermediar, fiind strâns legată de metabolismul aminoacizilor, glicoliză și catabolismul bazelor azotate pirimidinice (fig. 3.12). Astfel, piruvatul rezultat din glicoliză trece în 3-metil-2-cetobutirat în urma unui șir de reacții catalizate de enzime specifice. Același intermediar se formează, însă, și prin transaminarea valinei sub acțiunea aminotransferazei sale specifice.

În continuare, sub acțiunea 3-metil-2-cetobutirat-hidroximetil-transferazei, enzimă înalt specifică, 3-metil-2-ceto-butiratul trece în 2-dehidropantoat care este redus de către 2-dehidropantoat-2-reductază, o enzimă NADPH dependentă, la acid pantoic.

La rândul său, pantoatul trece în acid pantotenic care se mai poate forma și din β -alanină, cisteină, acid propionic, acid aspartic, uracil și alți precursori.

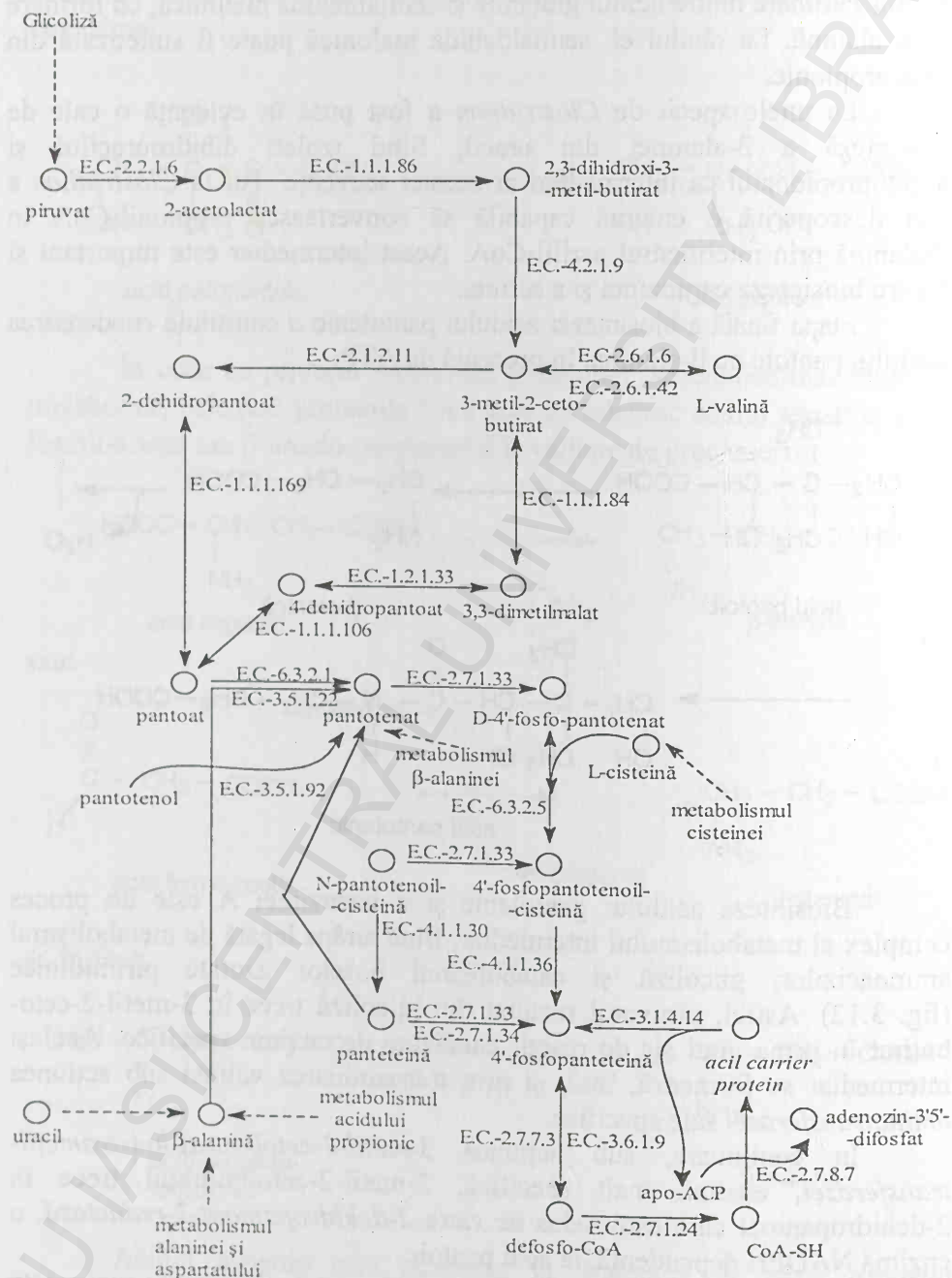


Figura 3.12. Reprezentarea schematică a reacțiilor din metabolismul intermediar prin care se sintetizează acidul pantotenic și coenzima A (Metzler, 1977).

3.5.4.2. Absorbția intestinală și transportul acidului pantotenic

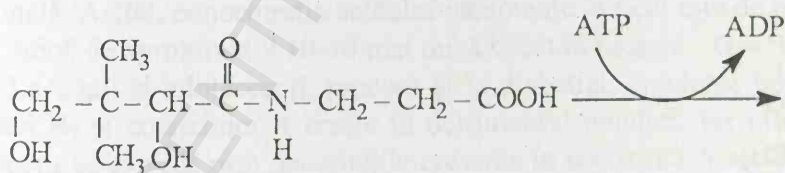
Acidul pantotenic este absorbit la nivelul mucoasei intestinale printr-un mecanism complex de transport transmembranar. În experimente efectuate cu ^{14}C -pantotenat s-a demonstrat că acest transport este foarte rapid, dependent de energia moleculelor de ATP și specific.

Concentrația sanguină a acidului pantotenic liber este de ordinul a $1\ \mu\text{g/ml}$, deoarece în cea mai mare parte acidul pantotenic se activează sub formă de coenzima A. Datorită importanței biochimice a acestui cofactor, studiul concentrației serice a acidului pantotenic prezintă un interes mai mic în comparație cu distribuția coenzimei A în țesuturi.

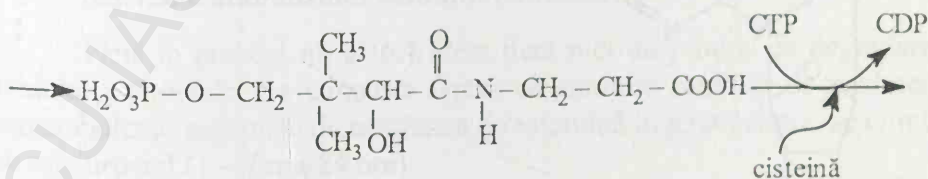
Procesul de biosinteză a coenzimei A a fost elucidat inițial prin studii efectuate pe specii ale genurilor *Proteus*, *Neurospora* etc. Într-o primă fază are loc o activare a acidului pantotenic în prezența ATP-ului când se formează acidul 4-fosfopantotenic.

Acesta se condensează apoi cu cisteina utilizând energia din moleculele de CTP și formează 4-fosfopantotenil-cisteina. Prin decarboxilarea ulterioară a acestuia ia naștere 4-fosfopantoteina care reacționează cu o nouă moleculă de ATP printr-un mecanism similar cu cel întâlnit în biosinteza altor coenzime nucleotidice.

În urma acestei reacții de condensare se formează defosfo-CoA și pirofosfat. În ultima etapă, sub acțiunea unei *kinaze* specifice, defosfo-CoA trece în coenzima A:

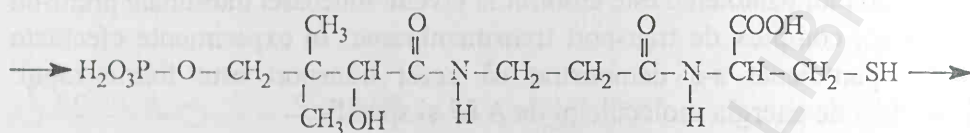


acid pantotenic

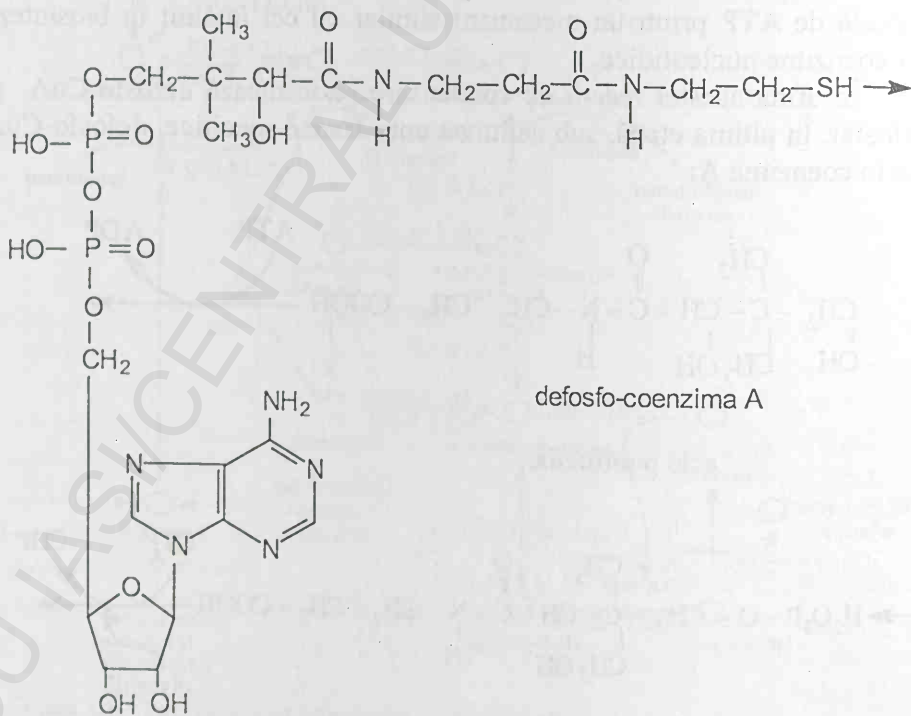
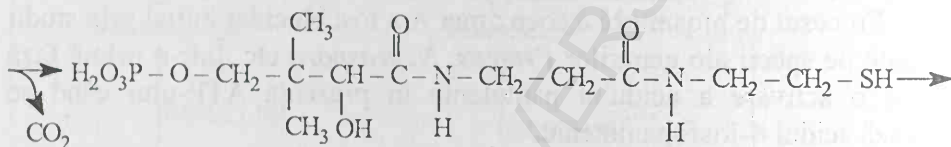


cisteină

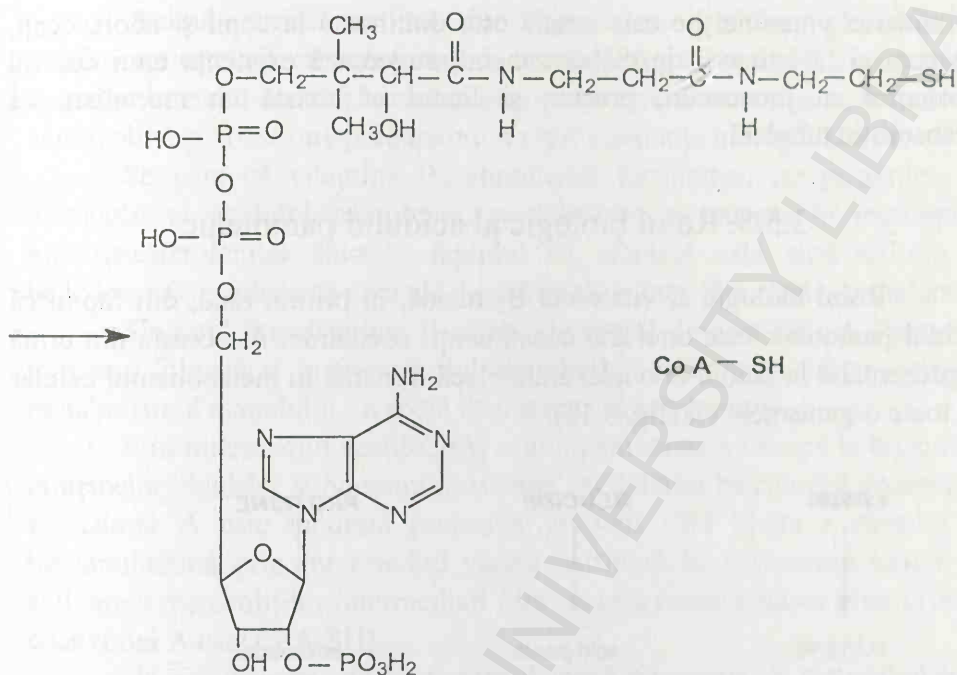
acid 4-fosfo-pantotenic



4-fosfo-pantotenil-serină



defosfo-coenzima A



În ceea ce privește transportul acidului pantotenic și al coenzimei A, nu s-a pus în evidență până în prezent existența vreunei proteine de transport specifice. Rezervele de pantotenat și coenzimă A evoluează paralel și variază foarte mult de la un țesut la altul, fiind dependente și de starea nutrițională. Astfel, concentrația acidului pantotenic în ficat este de ordinul a 10^{-8} M adică de aproximativ 10 ori mai mică decât în mușchi.

La copii și adolescenți, precum și la diabetici, ponderea hepatică a vitaminei B₅ și coenzimei A crește în detrimentul ponderii lor musculare. Acest lucru se explică prin necesitățile crescute în coenzimă A ale ficatului, cofactor necesar procesului accelerat de citogeneză și β -oxidare la subiecții amintiți.

3.5.4.3. Catabolismul acidului pantotenic

Până în prezent nu a fost identificat nici un produs de degradare a acidului pantotenic. Se cunoaște faptul că anumite cantități de pantotenat nemetabolizat, apropiate de cantitatea de vitamină ingerată zilnic, se elimină pe cale urinară (1 – 7 mg/24 ore).

Cantitatea de acid pantotenic eliminată depinde nu numai de aportul vitaminic ci și de vârstă, starea fiziopatologică și alți factori. Faptul că

eliminarea vitaminei pe cale renală este diminuată la copii și adolescenți, precum și la bolnavii de diabet zaharat, sugerează existența unui control hormonal al procesului, precum și faptul că există un mecanism de reabsorbție tubulară.

3.5.5. Rolul biologic al acidului pantotenic

Rolul biologic al vitaminei B₅ rezidă, în primul rând, din faptul că acidul pantotenic este unul din constituenții coenzimei A, aceasta din urmă reprezentând la rândul ei o adevărată placă turnantă în metabolismul celular la toate organismele vii (fig. 3.13).

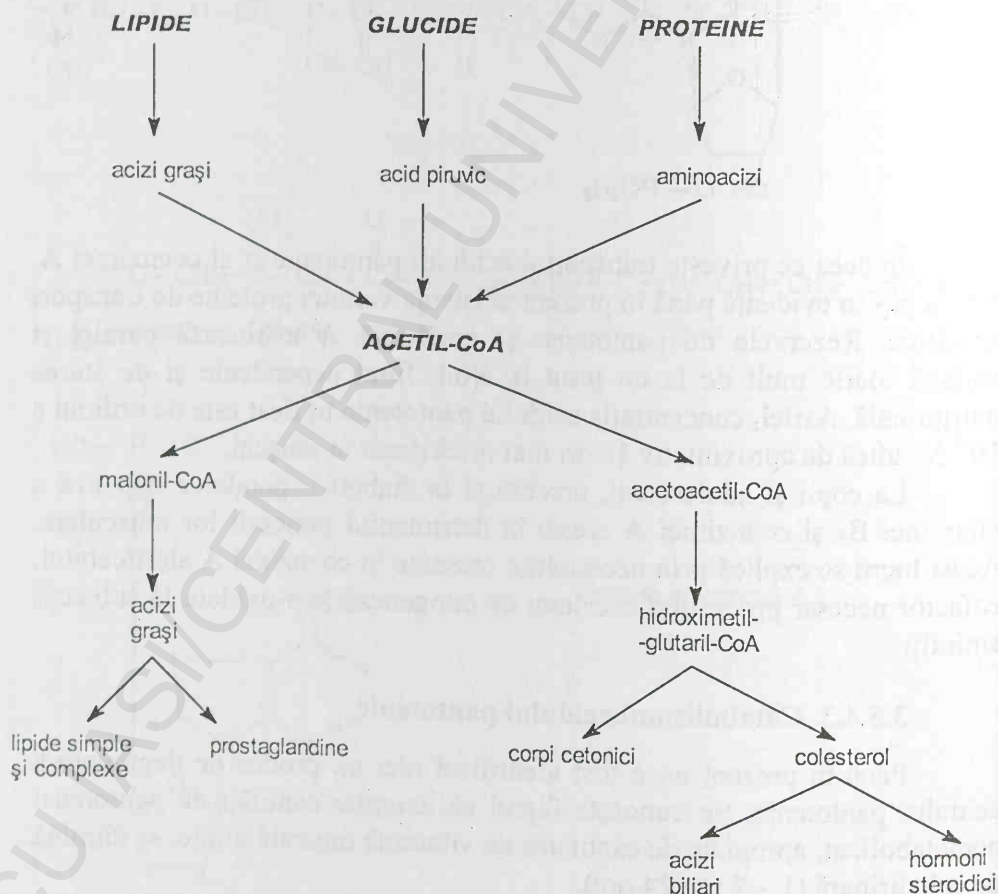


Figura 3.13. Rolul coenzimei A în metabolismul celular.

Acidul acetic rezultat din degradarea lipidelor, glucidelor și proteinelor este activat sub formă de acetyl-CoA care poate fi în continuare degradat în ciclul acizilor tricarboxilici, poate esterifica colina cu formare de acetilcolină și constituie precursorul multor substanțe biologice active.

Se pare că vitamina B₅ stimulează fertilitatea, iar pantenina, un metabolit al acidului pantotenic, se folosește cu succes în tratamentul hipercolesterolemiei datorită faptului că efectele sale sunt extrem de benefice, este o substanță naturală, lipsită de toxicitate, fără efecte secundare.

Singurul inconvenient îl constituie prețul de cost ridicat. Pantenina mai este folosită și în tratamentul alcoolizilor, acest metabolit accelerând metabolismul etanolului, în speță degradarea sa enzimatică.

Prin intermediul acetyl-CoA, acidul pantotenic participă la biosinteza proteinelor, lipidelor și hormonilor steroizi. Activitatea biochimică deosebită a coenzimei A este datorată prezenței grupării -SH libere a restului de tioetanolamină prin intermediul căreia participă la numeroase reacții de activare a metaboliților intermediari (din această cauză notarea prescurtată a coenzimei A este CoA-SH).

Un rol deosebit de important îl joacă coenzima A în catabolismul lipidelor, deoarece prima etapă a degradării acizilor grași pe calea β -oxidării o constituie activarea acestora sub formă de acil-CoA. Acidul pantotenic ameliorează simptomele poliartritei reumatoide și diminuează reacțiile cutanate ale expunerii la unii alergenii (polen, praf etc.).

3.5.6. Necesarul de acid pantotenic

Determinarea necesarului de acid pantotenic exogen este greu de stabilit dat fiind faptul că o parte din necesitățile zilnice de pantotenat este asigurată de vitamina sintetizată de flora intestinală. Conform recomandărilor OMS, necesitățile zilnice de acid pantotenic se situează între 4 – 7 mg pentru adulți și 1,7 – 4,7 mg la copii.

Aceste necesități sunt în general acoperite în cazul unei alimentații naturale diversificate deoarece acidul pantotenic și coenzima A se găsesc în toate alimentele, atât de origine vegetală cât și animală (Bender, 1999).

Doar pentru femeile care alăptează este posibilă necesitatea unui adaos suplimentar deoarece la acestea, necesarul se situează la 10 mg/zi. În condiții fiziologice normale, aportul zilnic de acid pantotenic din alimente este bine definit pentru toate categoriile de vârstă (tabelul 3.12).

Tabelul 3.12

Doza zilnică recomandată de acid pantotenic în funcție de vârstă, și sex*

Subiecți	Vârsta	Fete/Femei (mg/24 ore)	Băieți/Bărbați (mg/24 ore)
Nou-născuți	0–6 luni	1,7	1,7
Copii	7–12 luni	1,8	1,8
Copii	1–3 ani	2	2
Copii	4–8 ani	3	3
Adolescenți	9–13 ani	4	4
Adolescenți	14–18 ani	5	5
Adulți	Peste 19 ani	5	5
Femei însărcinate	Orice vârstă	6	–
Femei care alăptează	Orice vârstă	7	–

* OMS, 2003 (Freeman, 2004).

3.5.7. Tulburări de aport vitaminic

Dat fiind faptul că majoritatea alimentelor consumate de om au un conținut suficient de mare în acid pantotenic și coenzimă A, stările de carență vitaminică au o incidență foarte scăzută. Stările de hipovitaminoză pot interveni, de aceea, în malnutriție și în alterarea capacității de absorbție intestinală.

Observațiile clinice efectuate până în prezent arată că hipovitaminoza B₅ se manifestă prin alopecie, ulceratii cutanate, duodenite și ulcer duodenal, necroză suprarenală etc. La nivel molecular, apar alterări ale procesului de biosinteză a colesterolului și corticosteroizilor, ale decarboxilării oxidative a piruvatului și metabolismul acizilor grași precum și anomalii ale biosintezei anticorpilor.

Unii autori sugerează un anumit rol al acidului pantotenic în cicatrizarea plăgilor. Stările de hipovitaminoză la om, în afara faptului că sunt rare, nu sunt niciodată cauzate doar de carența în acid pantotenic ci sunt mixte, motiv pentru care nu poate fi elaborat un profil clinic net al acestor stări.

3.5.8. Grupe de risc

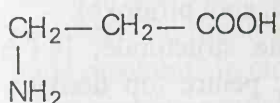
Datorită faptului că vitamina B₅ este larg răspândită în alimente, apariția simptomelor de avitaminoză este rară, iar grupele de risc la care

probabilitatea instalării avitaminozei este ceva mai mare sunt, de asemenea, mult mai puțin numeroase decât în cazul altor vitamine:

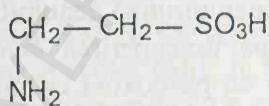
- indivizi cu malnutriție avansată;
- subiecți care, din motive medicale, sunt hrăniți timp îndelungat exclusiv pe cale parenterală;
- femei care alăptează.

3.5.9. Substanțe cu acțiune antagonistă acidului pantotenic

Dintre analogii structurali cu acțiune antagonistă acidului pantotenic, cel mai important este pantoilaurina în structura căreia, restul de β -alanină este substituit cu un rest de taurină:



β -alanina



taurina

Pantoilaurina este utilizată în practica medicală pentru combaterea unor paraziți care necesită acid pantotenic pentru creșterea lor. Derivații metoxilați ai taurinei au, de asemenea, acțiune antagonistă acidului pantotenic.

3.6. Vitamina B₆ (piridoxina, adermina)

3.6.1. Generalități

Primele date științifice referitoare la vitamina B₆ datează din 1926, când *Goldberg* și *Lillie* studiază acrodermia, o dermatită caracteristică ce apare la șobolani supuși unei diete lipsită de vitaminele complexului B.

Între 1923 – 1935, *P. György* face o serie de experiențe pe șobolani tineri cărora le administrează diete lipsite de vitaminele complexului B cunoscute atunci, dar adaugă tiamină și riboflavină. După câteva săptămâni observă o încetinire a procesului de creștere și apariția de dermatite simetrice la urechi, labe și în jurul botului.

Mult timp, simptomele avitaminozei B₆ au fost confundate cu simptomele carenței în vitaminele B₁, B₂ și PP. Abia în 1937 s-a diferențiat riboflavina și piridoxina de factorul preventiv al pelagrei (vitamina PP) și s-a stabilit existența separată a vitaminei B₆ în complexul vitaminic B.

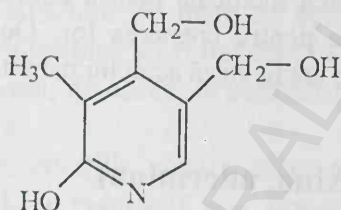
În 1938, *Lepkovsky* obține pentru prima dată piridoxina în stare pură, cristalină, iar structura chimică a fost clarificată de către *Haris* și *Kuhn* în 1939 ca fiind 3-hidroxi-4,5 dihidroximetil-2-metil-piridină.

Denumirea de piridoxină pentru vitamina B₆ a fost dată în 1939 de către *György*, iar în perioada 1942 – 1944 se demonstrează existența a trei forme diferite structural ale vitaminei B₆ și anume piridoxina, piridoxalul și piridoxamina.

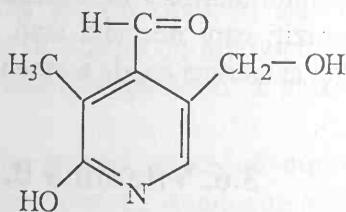
3.6.2. Structura chimică și proprietățile vitaminei B₆

Prima formă a vitaminei B₆, care a fost studiată din punct de vedere al structurii chimice, a fost substanța cu structura 4,5-di(hidroximetil)-3-hidroxi-2-metilpiridină denumită piridoxină; apoi piridoxol.

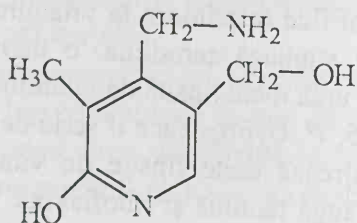
După descoperirea celorlalte forme structurale, IUPAC propune denumirea de piridoxină ca nume generic pentru toți derivații naturali ai piridinei care prezintă activitate vitaminică B₆, adică piridoxina (piridoxolul), piridoxalul și piridoxamina:



piridoxină (piridoxol)

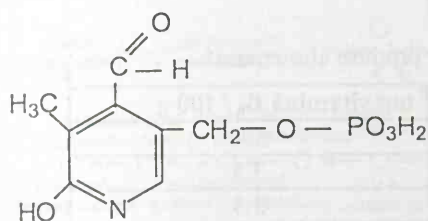


piridoxal

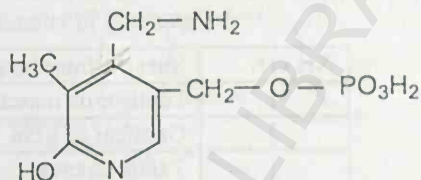


piridoxamină

În calitate de cofactori, funcționează esteri fosforici ai piridoxalului și piridoxaminei, adică piridoxal-5-fosfatul și, respectiv, piridoxamin-5-fosfatul:



piridoxal-5-fosfat
(PALP)



piridoxamin-5-fosfat
(PAMP)

Piridoxolul este o substanță cristalină, incoloră, care sublimază în vid, fără miros și gust acru. Este instabilă la lumină, mai ales la acțiunea razelor ultraviolete. Se dizolvă ușor în apă și alcool, este puțin solubilă în acetonă și total insolubilă în cloroform, benzen și eter etilic. În soluții neutre și alcaline se descompune rapid în timp ce soluțiile acide nu o modifică.

Ca și piridoxina, piridoxalul se purifică sub forma clorhidratului său sub formă de cristale incolore. Este, de asemenea, ușor solubil în apă și alcool, iar soluțiile sunt instabile chiar și în mediu acid.

Clorhidratul de piridoxină este un compus cristalin, incolor, foarte higroscopic, ușor solubil în apă și greu solubil în alcool. Este forma cea mai fotosensibilă a vitaminei B₆. Soluțiile sale pot fi însă păstrate în fiole închise la culoare timp îndelungat.

3.6.3. Stare naturală

Ca toate vitaminele complexului B, vitamina B₆ se găsește în cantități mari în drojdia de bere. Cantități apreciabile de piridoxină se găsesc în multe alimente de origine animală și vegetală, cele mai bune surse vitaminice pentru om fiind peștele, rinichiul și ficatul de porc, carnea de porc slabă, carnea de pasăre, creier, gălbenușul de ou, brânzeturile, vinul, laptele etc.

Ca și în cazul celorlalte vitamine din grupul B, cantități foarte mari de piridoxină se găsesc în lăptișorul de matcă. Dintre alimentele de origine vegetală, cele mai bune surse de vitamină B₆ sunt făina integrală de grâu, orezul nedecorticat (brun), legumele proaspete, banane, avocado, fasolea verde, ridichile, soia, nucile, salata, varza, spanacul, țelina, cartofii, mazărea, ceapa, dovleacul etc. (tabelul 3.13).

Tabelul 3.13

Conținutul în vitamină B₆ al unor produse alimentare*

Nr. crt.	Sursa alimentară	mg vitamină B ₆ / 100 g
1	Lăptișor de matcă	500
2	Germenii de grâu	3,5
3	Tărâțe de orez	2,5
4	Drojdie de panificație	2
5	Tărâțe de grâu	1,3
6	Sardele	1
7	Ficat de vițel	0,9
8	Nuci	0,9
9	Orez nedecorticat	0,6
10	Linte	0,6
11	Banane	0,5
12	Avocado	0,4
13	Varză	0,3
14	Miere de albine	0,3

* *L'Encyclopédie Médicale*, Paris, 2003.

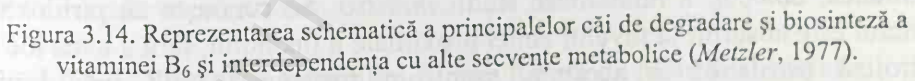
3.6.4. Sinteza chimică a vitaminei B₆

De-a lungul timpului au fost puse la punct mai multe metode de sinteză chimică a piridoxinei. Inițial, sinteza se realizează prin condensarea cianacetamidei cu α -acetil- α' -etoxiacetona. O altă metodă utilizează ca materie primă acidul 3-metoxi-2-metil-piridil-4,5-dicarboxilic.

În 1952, *Cohen* propune o metodă de sinteză chimică a piridoxinei folosind ca materii prime aceleași substanțe care reprezintă precursorii în căile de biosinteză a vitaminei B₆ adică alanina, formaldehida și acidul succinic.

3.6.5. Metabolismul vitaminei B₆

Secvențele metabolice prin care se sintetizează și, respectiv, se degradează piridoxina sunt extrem de complexe, încă incomplet elucidate și se află în strânsă interdependență cu metabolismul altor biomolecule (calea pentofofosfaților, ciclul glicoliticului, metabolismul unor aminoacizi etc. (fig. 3.14).



Marea majoritate a microorganismelor sunt capabile să sintetizeze piridoxina. Cu toate acestea, secvențele metabolice prin care această vitamină se sintetizează *in vivo* nu sunt complet elucidate. S-a constatat că celulele de *E. coli*, care necesită piridoxalul în calitate de factor de creștere, pot sintetiza acest compus dacă mediul de cultură conține serină, glicocol și glicocaldehidă.

S-a mai demonstrat că toți acizii din ciclul Krebs, în special malic și citric, stimulează, în egală măsură, biosinteza piridoxalului. Conversia

piridoxalului în forma coenzimatică activă de piridoxal-5-fosfat are loc în prezența ATP-ului, care furnizează atât radicalul ortofosfat cât și energia necesară fosforilării sub acțiunea *piridoxal-kinazei*.

S-ar părea că țesutul nervos, în special celulele din creier, au un conținut mare de *piridoxal-kinază*. Spre deosebire de alte kinaze, ea este activată de ionii de zinc și nu de ionii de magneziu sau mangan. În același timp, *piridoxal-kinaza* este puternic inhibată de unii derivați de hidrazină și, în special, de hidrazida acidului izonicotinic.

3.6.5.2. Absorbția intestinală a vitaminei B₆

Piridoxina este absorbită la nivelul jejunului prin difuzie directă. În urma administrării pe cale orală a vitaminei B₆ la om și animale de experiență, precum și în urma unor cercetări *in vivo* s-a stabilit că absorbția intestinală a piridoxinei este un proces lent, viteza de difuzie depinzând de concentrația vitaminei în lumenul intestinal. Acest proces nu este inhibat de analogii structurali de tipul 4-deoxipiridoxinei și de uabaină și nu este dependent de sodiu. Toate acestea indică existența unui sistem de transport pasiv al piridoxinei.

În enterocite are loc fosforilarea piridoxinei, viteza de reacție depinzând de concentrația vitaminei. Această fosforilare este însoțită de o diminuare a absorbției intestinale, dar rolul mecanismelor de fosforilare în transportul intraenterocitar al piridoxinei rămâne deocamdată neclar.

Absorbția piridoxal-fosfatului și a piridoxaminei a constituit, de asemenea, obiectul a numeroase studii *in vitro*. Se cunoaște că piridoxal-fosfatul este absorbit la nivelul zonei proximale a ileonului, fără a avea loc o hidroliză prealabilă a acestuia, printr-un mecanism mult mai rapid comparativ cu difuzia piridoxinei.

Unele cercetări par să ateste însă, că alături de transportul pasiv al vitaminei B₆ prin difuzie, ar putea exista și un mecanism de transport specific, capabil să acumuleze piridoxina în enterocite în concentrații superioare celor din lumenul intestinal. Aceste presupuneri sunt deja parțial verificate de multiple observații clinice.

3.6.5.3. Circulația și repartiția în țesuturi

După absorbția la nivelul enterocitelor, toate formele vitaminei B₆ sunt vehiculate prin circulația entero-hepatică, acesta fiind organul cel mai bogat în vitamină B₆ (aproximativ 6 – 8 μg/g pentru piridoxal și derivații săi și, respectiv, 2,5 μg/g pentru piridoxamină și derivații săi). În sânge,

concentrația constituenților vitaminei B₆ se stabilizează în jurul valorii de numai 115 mM, repartitia fiind însă extrem de neuniformă între constituenții de bază: 50 – 55% piridoxal-fosfat, 22 – 27% piridoxină, 8 – 11% piridoxal și, respectiv, 3 – 5% piridoxamină.

S-a demonstrat că piridoxal-fosfatul circulă sub forma unor complecși vitamino-proteici, legându-se în principal de serumalbumine, fapt ce-l protejează de acțiunea hidrolitică a *fosfomonoesterazelor alcaline*. Acești complecși vitamino-proteici sunt sintetizați în ficat, piridoxal-fosfatul părăsind hepatocitul sub această formă. Vitamina B₆ sanguină este repartizată în două compartimente diferite: compartimentul plasmatic și compartimentul globular care este de două ori mai bogat decât primul.

Penetrarea membranei eritrocitare de către vitamina B₆ se realizează prin difuzie pasivă fără a fi vorba de un sistem de transport specific. În pofida inexistenței unui astfel de sistem de transport specializat, se realizează o acumulare intraeritrocitară a vitaminei datorată, în primul rând, fenomenelor de fosforilare, dar și faptului că aceasta formează complecși cu unele proteine intraglobulare, probabil hemoglobina.

În sânge există două rezerve de vitamină B₆: o rezervă plasmatică sub forma complecșilor vitamino-proteici și o rezervă globulară, probabil, sub forma unor complecși cu hemoglobina. Forma plasmatică este cea care pune la dispoziția diferitelor țesuturi necesarul de vitamină B₆.

Pentru aceasta, la nivelul țesutului respectiv, piridoxalul este eliberat sub acțiunea unei *fosfataze* specifice, penetrează membrana celulară și este refosforilat în citosol. Turnover-ul vitaminei B₆ este relativ scăzut, doar 2 – 4% din rezerve reînnoindu-se zilnic.

3.6.5.4. Activarea vitaminei B₆ sub formă de piridoxal-fosfat

Transformarea vitaminei B₆ prin fosforilare are o importanță deosebită, dat fiind rolul de coenzimă al piridoxal-fosfatului.

Această conversie se realizează sub acțiunea unei enzime specifice, *piridoxal-kinaza*, prezentă în toate celulele organismului, în două moduri (fig. 3.15):

- a) conversia piridoxaminei în piridoxal sub acțiunea *piridoxin-oxidazei*, urmată de o fosforilare în prezența *piridoxal-kinazei*;
- b) transformarea piridoxinei în fosfat de piridoxină, urmată de deshidratare sub acțiunea unei oxidaze specifice – *piridoxin-fosfat-kinaza*. Procesul conversiei piridoxaminei în coenzimă are loc sub acțiunea succesivă a unei *kinaze* specifice, respectiv, a unei *oxidaze* similară cu cea care oxidează fosfatul de piridoxină.

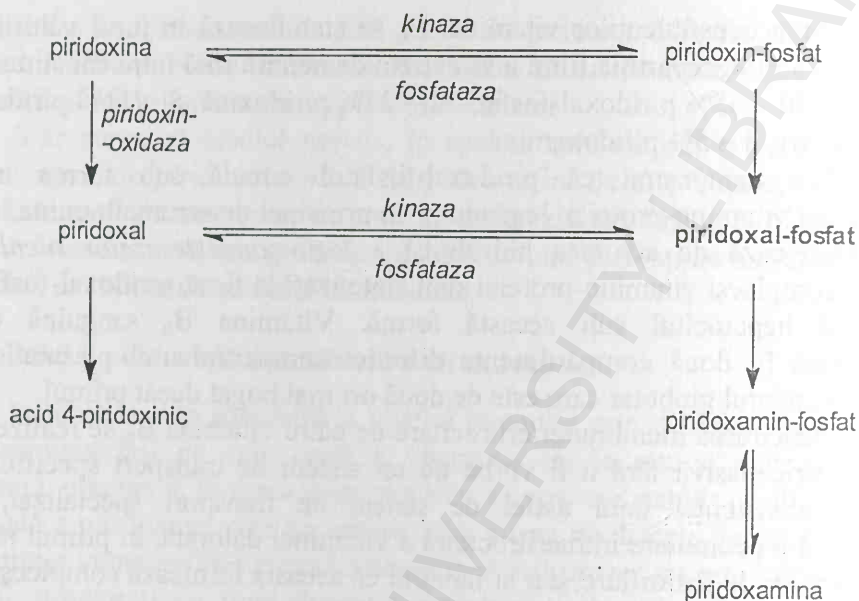


Figura 3.15. Reacțiile de intertransformare ale diferitelor forme ale vitaminei B₆.

3.6.5.5. Catabolismul și eliminarea vitaminei B₆

Aproximativ 50% din cantitatea de vitamină B₆ ingerată zilnic se elimină pe cale urinară sub formă de acid 4-piridoxinic (0,5 – 1,3 mg/zi) în timp ce eliminarea vitaminei propriu-zise se face în cantități foarte mici. S-au mai identificat în cantități mici și alți metaboliți ai vitaminei B₆.

Înainte de oxidarea în acid 4-piridoxinic, piridoxina și piridoxamina sunt convertite în prealabil în piridoxal care, sub acțiunea unei *aldehid-oxidaze* specifice, trece în acid 4-piridoxinic. Nu se elimină prin urină piridoxal-fosfatul deoarece forma coenzimatică a vitaminei B₆ nu este ultrafiltrabilă.

Se presupune că, în cazul în care se găsește în urină sub formă de urme, el provine din țesutul renal și nu din rezervele serice de piridoxal-fosfat.

3.6.6. Rolul biologic al vitaminei B₆

Piridoxina îndeplinește numeroase funcții biochimice și fiziologice în organism: reprezintă precursorul piridoxal-fosfatului, coenzimă implicată în metabolismul aminoacizilor, stimulează procesul de biosinteză a imunoglobulinelor (anticorpilor), intervine în biosinteza hemoglobinei etc.

Principalul rol biologic al vitaminei B₆ este acela de coenzimă, sub formă de piridoxal-fosfat, formă sub care intervine în toate transformările neoxidative ale aminoacizilor: transaminare, decarboxilare, racemizare, α-, β-eliminări și altele.

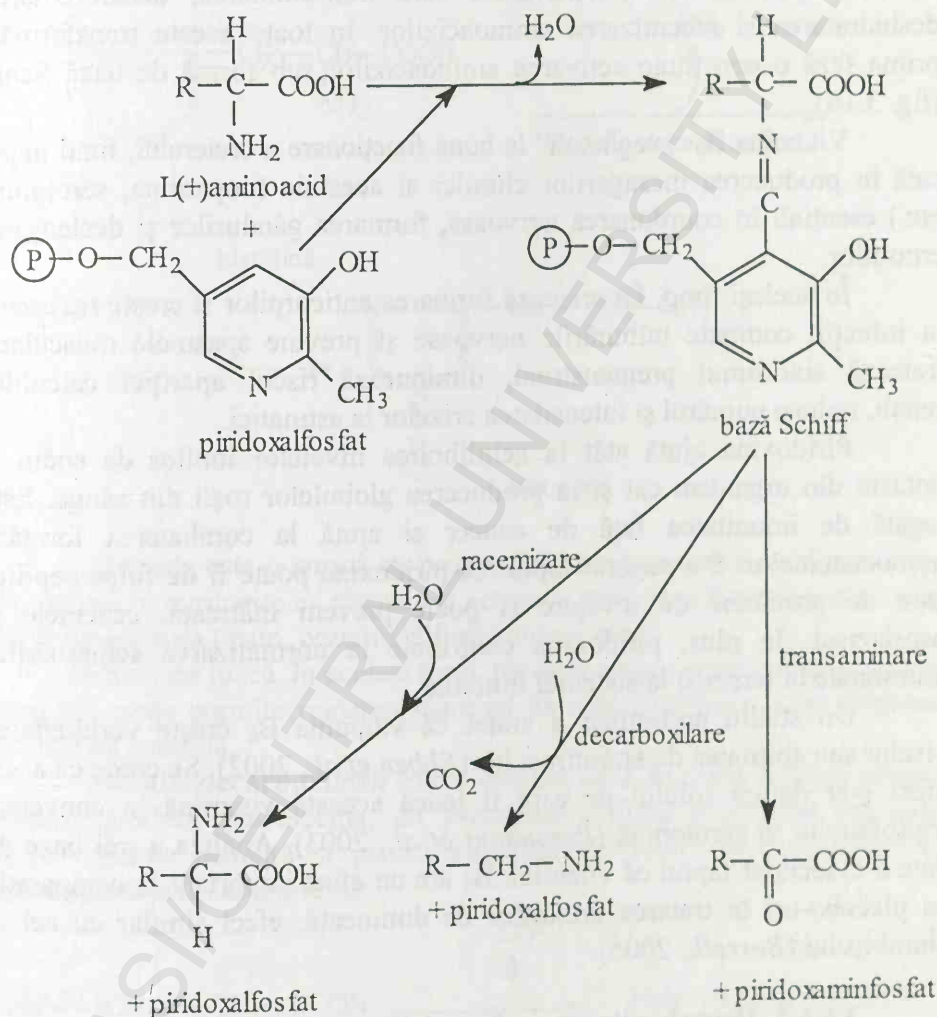


Figura 3.16. Mecanismul general de transformare a aminoacizilor sub acțiunea enzimelor piridoxalfosfat-dependente (Voet and Voet, 1990).

Transformările metabolice neoxidative ale aminoacizilor în prezența piridoxal-fosfatului în calitate de coenzimă se realizează datorită posibilității formării cu ușurință a complexelor enzimă-substrat prin formarea de baze

Schiff între aminoacizi și coenzimă (piridoxal-fosfat). În felul acesta, aminoacidul este activat în vederea realizării transformărilor enzimatice ulterioare.

Formarea bazei Schiff între aminoacid și piridoxal-fosfat are loc în situsul catalitic al enzimei. Principalele procese enzimatice în care intervin enzimele piridoxalfosfat-dependente sunt transaminarea, decarboxilarea, deshidratarea și racemizarea aminoacizilor. În toate aceste transformări, prima fază o constituie activarea aminoacizilor sub formă de bază Schiff (fig. 3.16).

Vitamina B₆ „veghează” la buna funcționare a creierului, fiind implicată în producerea mesagerilor chimici ai acestuia (dopamina, serotonina etc.) esențiali în coordonarea nervoasă, formarea gândurilor și declanșarea emoțiilor.

În același timp, favorizează formarea anticorpilor și crește rezistența la infecții, combate tulburările nervoase și previne spasmele musculare, tratează sindromul premenstrual, diminuează riscul apariției calculilor renali, reduce numărul și intensitatea crizelor la astmatici.

Piridoxina ajută atât la echilibrarea nivelelor ionilor de sodiu și potasiu din organism cât și la producerea globulelor roșii din sânge. Este legată de imunitatea față de cancer și ajută la combaterea formării homocisteinelor. S-a sugerat faptul că piridoxina poate fi de folos copiilor care au probleme de învățare și poate preveni mătreața, eczemele și psoriazisul. În plus, piridoxina contribuie la normalizarea schimbărilor hormonale la femei și la sistemul imunitar.

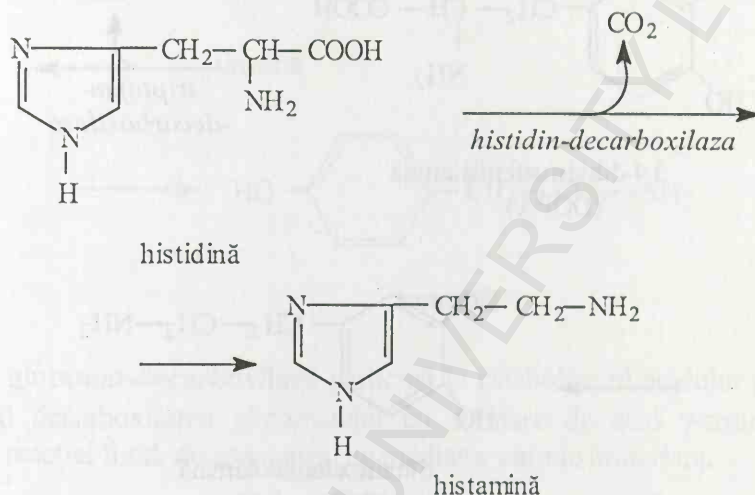
Un studiu preliminar a arătat că vitamina B₆ crește veridicitatea viselor sau abilitatea de amintire a lor (Ebben et al., 2002). Se crede că acest efect s-ar datora rolului pe care îl joacă această vitamină în conversia triptofanului în serotonină (Percudani et al., 2003). Analiza a trei baze de date a evidențiat faptul că vitamina B₆ are un efect important în comparație cu placebo-uri în tratarea grețurilor de dimineață, efect similar cu cel al ghimbirului (Borrelli, 2005).

3.6.6.1. Decarboxilarea aminoacizilor

Reacțiile de decarboxilare a aminoacizilor sunt catalizate de aminoacid-decarboxilaze specifice piridoxalfosfat-dependente. Constituind una din căile generale de degradare a aminoacizilor, decarboxilarea acestora reprezintă, în același timp, o cale de biosinteză a unor compuși biologic activi cum ar fi aminele biogene și unii hormoni tisulari de tipul adrenalinei,

noradrenalinei, serotonininei, histaminei etc. Principalele decarboxilaze ce catalizează aceste procese sunt:

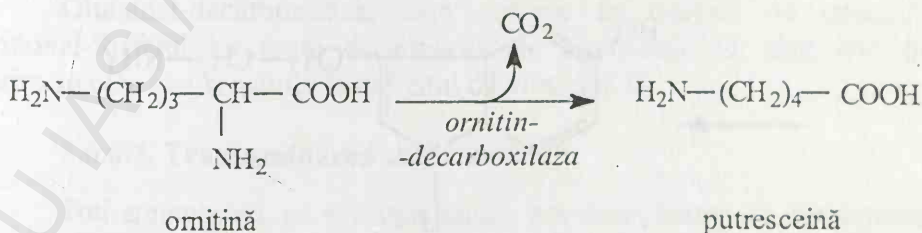
– **histidin-decarboxilaza** ce catalizează decarboxilarea histidinei cu formare de histamină:



Aceasta este o amină cu proprietăți vasopresoare a cărei activitate este extinsă la mastocite ca răspuns la acțiunea antigen-anticorp ce are loc la suprafața acestora (astm, eczeme, diferite alergii etc.).

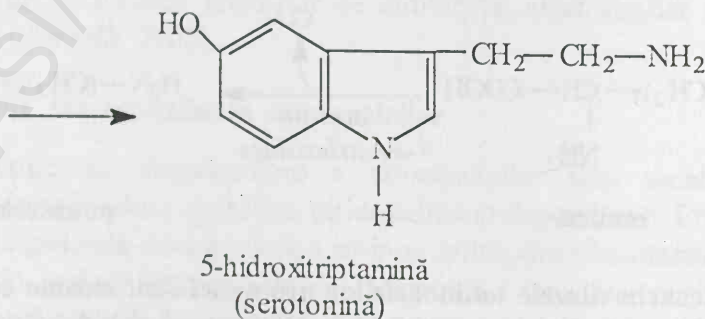
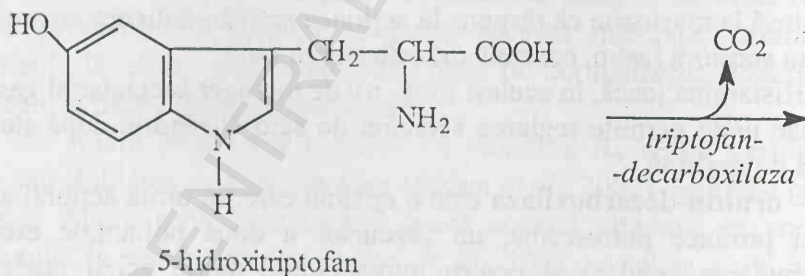
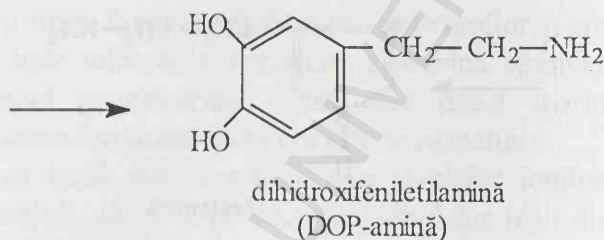
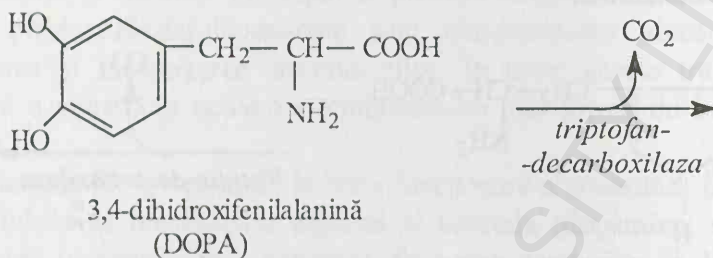
Histamina joacă, în același timp, rol de mesager secundar al gastrinei în stomac unde permite reglarea secreției de acid clorhidric după stoparea secreției de gastrină.

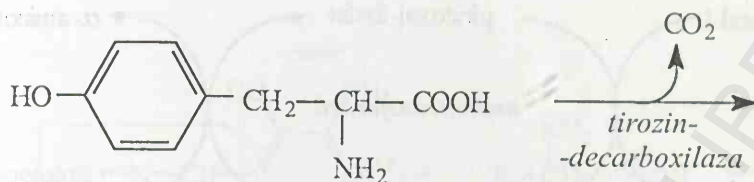
– **ornitin-decarboxilaza** este o enzimă care, în urma acțiunii asupra ornitinei produce putresceina, un precursor a două poliamine esențiale pentru reglarea celulară și pentru interacțiunile dintre acizii nucleici și anume spermina și spermidina:



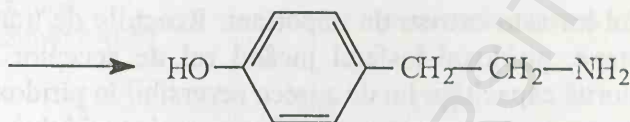
– **decarboxilazele aminoacizilor aromatici** sunt enzime ce decarboxilează dihidroxi-fenilalanina (DOPA) în DOP-amină, 5-hidroxitriptofanul în

5-hidroxitriptamină sau serotonină și tirozina cu formare de tiramină. Serotonina și DOP-amina sunt doi neurotransmițători importanți:



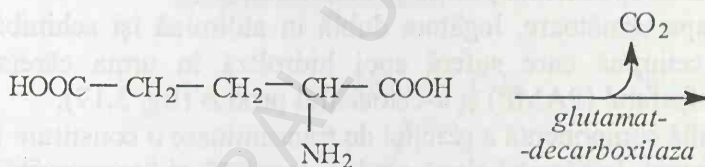


tirozină



tiramină

– glutamat-decarboxilaza participă la catabolismul acidului glutamic, catalizând decarboxilarea glutamatului cu formare de acid γ -aminobutiric, produsul reacției fiind, de asemenea, un mediator chimic important:



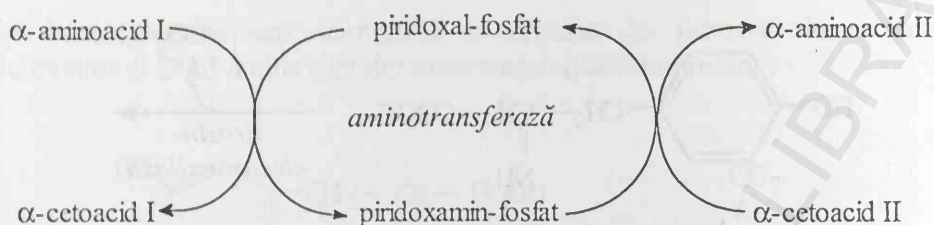
acid glutamic


 acid γ -aminobutiric

Glutamat-decarboxilaza, care conține în calitate de coenzimă piridoxal-fosfatul ca toate decarboxilazele aminoacizilor, este una din enzimele cele mai sensibile la deficitul de vitamină B₆.

3.6.6.2. Transaminarea aminoacizilor

Toți aminoacizii, cu excepția lizinei, pot suferi reacții de transaminare reversibile catalizate de *aminotransferaze* specifice ce conțin piridoxal-fosfatul în calitate de coenzime. În toate cazurile, acceptorul grupei -NH₂ este un α -cetoacid care se transformă într-un α -aminoacid:



Aminotransferazele sunt localizate atât în mitocondrii cât și în citosol, iar rolul lor este extrem de important. Reacțiile de transaminare au loc în două etape, *piridoxal-fosfatul* jucând rol de acceptor temporar de grupe $-\text{NH}_2$ datorită capacității lui de a trece reversibil în *piridoxamin-fosfat*.

În prima etapă, gruparea $-\text{NH}_2$ a aminoacidului reactant se condensează cu gruparea aldehydică a coenzimei deplasând gruparea ϵ -amino a restului de lizină din centrul activ al enzimei.

Cum în absența substratului grupa aldehydică a *piridoxal-fosfatului* formează o bază Schiff cu acest rest de lizină, în prima fază a procesului va rezulta o nouă bază Schiff aminoacid-PALP care este o aldimină și care rămâne legată de apoenzimă prin forțe necovalente.

În etapa următoare, legătura dublă în aldimină își schimbă poziția formând o cetimină care suferă apoi hidroliză în urma căreia rezultă *piridoxamin-fosfatul* (PAMP) și α -cetoacidul produs (fig. 3.17).

Cealaltă componentă a reacției de transaminare o constituie formarea noului aminoacid. În această etapă are loc, totodată, și regenerarea enzimei, mai exact refacerea formei aldehydice a cofactorului enzimatic. Complexul enzimatic apoenzimă-PAMP reacționează cu α -cetoacidul reactant (substrat II) care este acceptorul final al grupării- NH_2 cu formare de cetimină, apoi de aldimină.

Aceasta din urmă hidrolizează cu formarea α -aminoacidului produs și regenerând enzima în forma sa activă ce poate relua un nou ciclu de reacție adică forma apoenzimă-PALP. Cu alte cuvinte, succesiunea reacțiilor, este inversă componenteii ce realizează transformarea aminoacidului reactant în cetoacidul produs (fig. 3.18).

Până în prezent au fost izolate și studiate din punctul de vedere al mecanismului de acțiune și structurii lor chimice mai multe *transaminaze*. Determinarea activității unora dintre acestea prezintă o mare importanță pentru practica medicală.

Cele mai importante din acest punct de vedere sunt *glutamat-oxaloacetat-transaminaza* (GOT sau TGO) și *glutamat-piruvat-transaminaza* (GPT sau TGP).

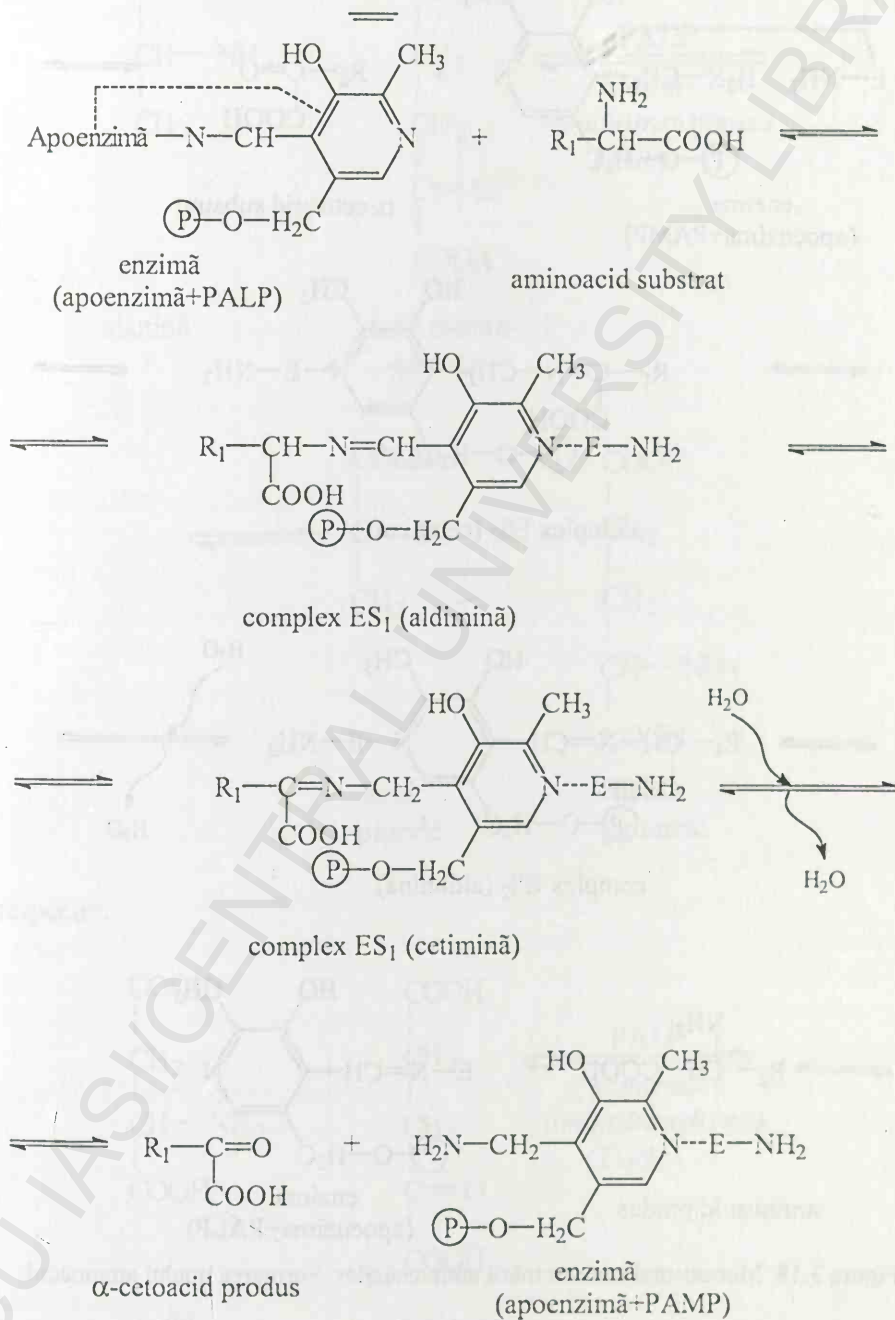


Figura 3.17. Mecanismul transaminării aminoacizilor. Formarea noului cetoacid.

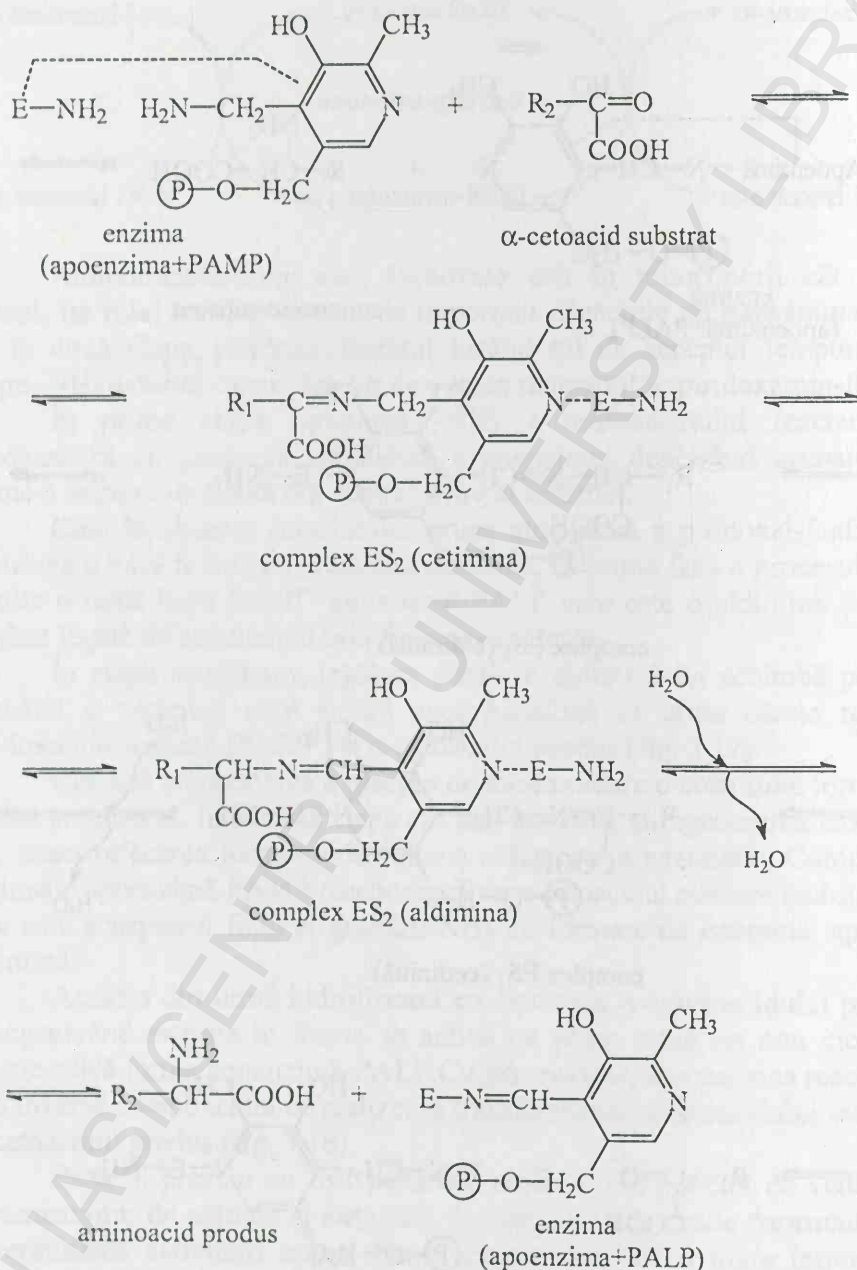
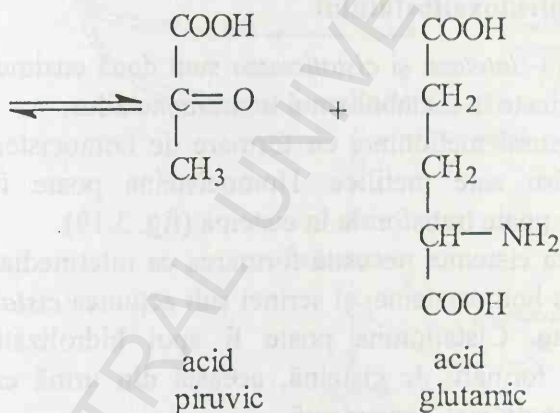
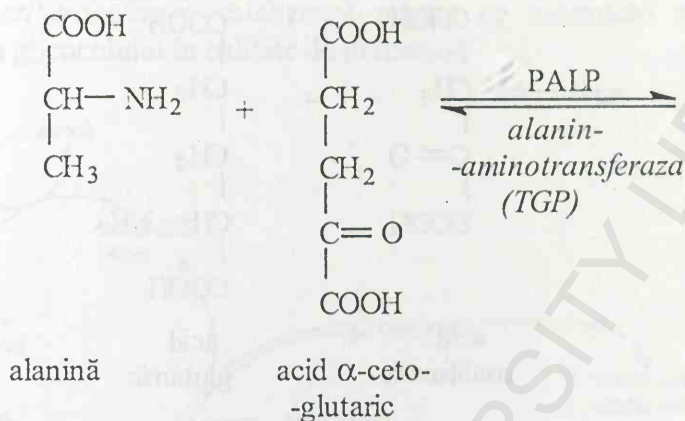
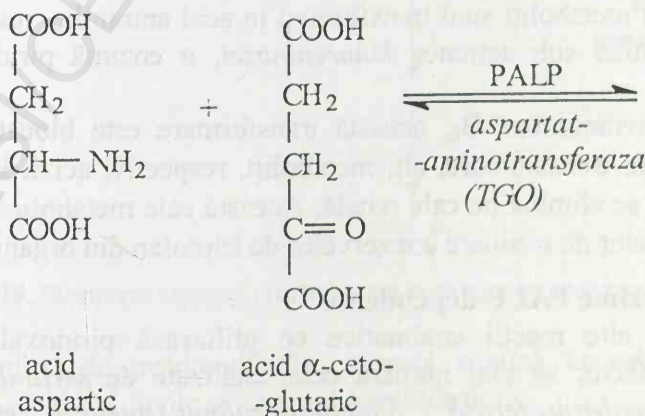


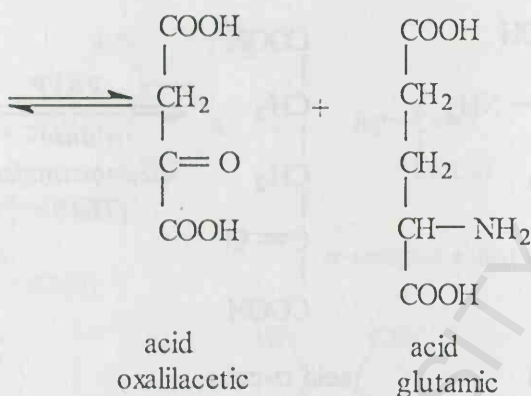
Figura 3.18. Mecanismul transaminării aminoacizilor. Formarea noului aminoacid.

În aceste reacții α -cetoacizii acceptori cel mai des întâlniți sunt acizii oxaloacetic, piruvic și α -cetoglutaric:



și respectiv:





3.6.6.3. Alte reacții enzimatice ce au loc cu participarea piridoxalfosfatului

Cistationin-sintetaza și *cistationaza* sunt două enzime piridoxalfosfat-dependente implicate în metabolismul tioaminoacizilor.

Metabolismul metioninei cu formare de homocisteină are loc prin transferul grupării sale metilice. Homocisteina poate fi remetilată în metionină sau se poate transforma în cisteină (fig. 3.19).

Biosinteza cisteinei necesită formarea ca intermediar a *cistationinei* prin condensarea homocisteinei și serinei sub acțiunea *cistationin-sintetazei* PALP-dependente. *Cistationina* poate fi apoi hidrolizată sub acțiunea *cistationazei* cu formare de cisteină, această din urmă enzimă fiind, de asemenea, piridoxalfosfat-dependență.

Kinureninaza. Degradarea oxidativă a triptofanului sub acțiunea *triptofan-pirolazei* are loc cu formare de kinurenină și 3-hidroxi-kinurenină. Ulterior, acești metaboliți sunt transformați în acid antranilic, respectiv acid 3-hidroxiantranilic sub acțiunea *kinureninazei*, o enzimă piridoxalfosfat-dependență.

În hipovitaminoza B₆, această transformare este blocată din care cauză apar, prin transaminare, alți metaboliți, respectiv, acizii kinurenic și antranilic care se elimină pe cale renală. Această cale metabolică secundară stă la baza testelor de evaluare a rezervelor de triptofan din organism.

Alte enzime PALP-dependente

Printre alte reacții enzimatice ce utilizează piridoxalfosfatul în calitate de cofactor se mai numără cele catalizate de *serin-dezaminază*, *serin-hidroximetil-transferază*, *δ-amino-levulinat-sintetază* etc. *Serin-*

hidroximetil-transferaza catalizează reacția de biosinteză a serinei prin utilizarea glicocolului în calitate de precursor.

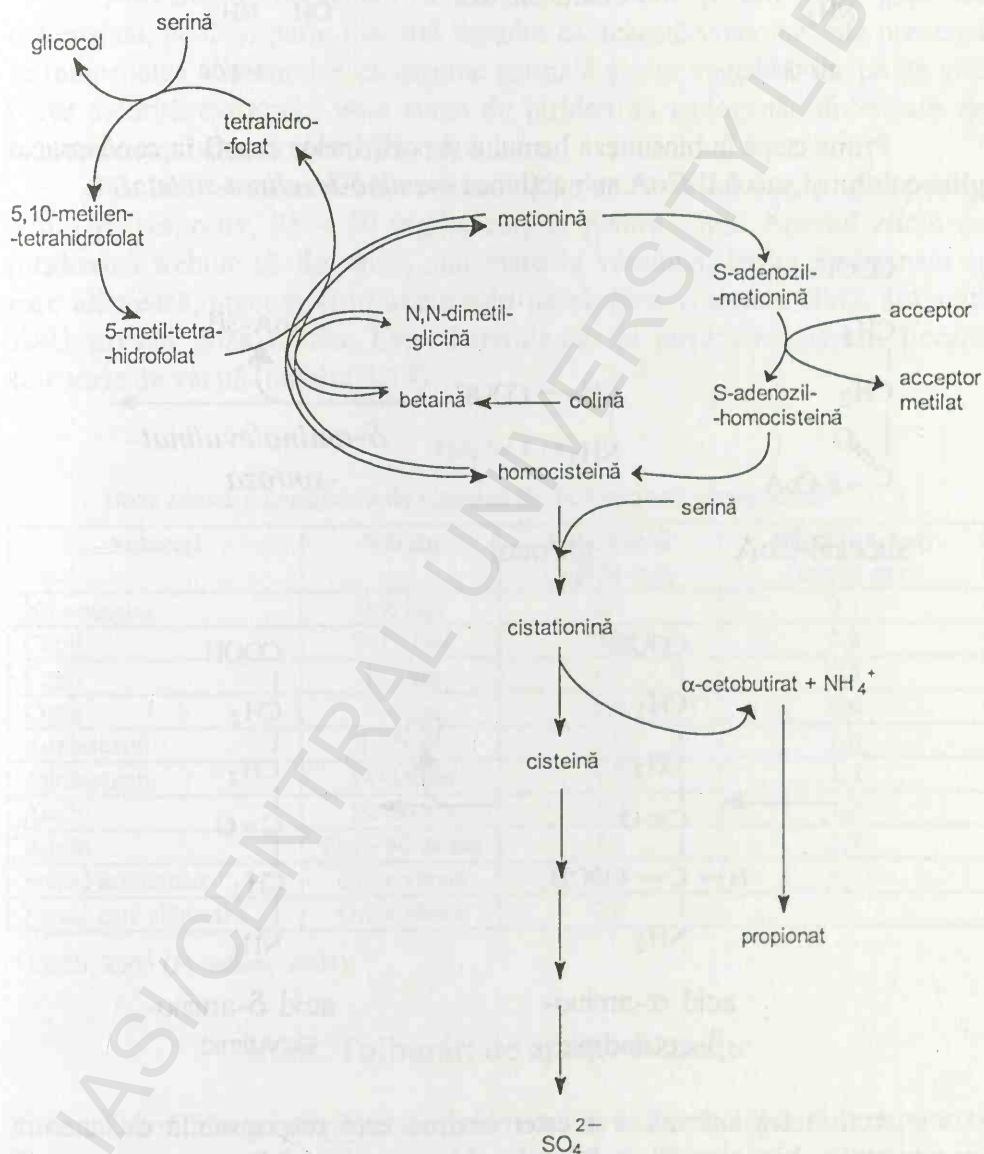
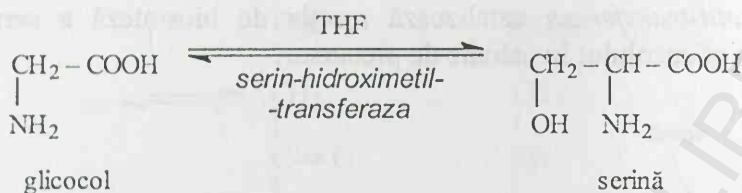
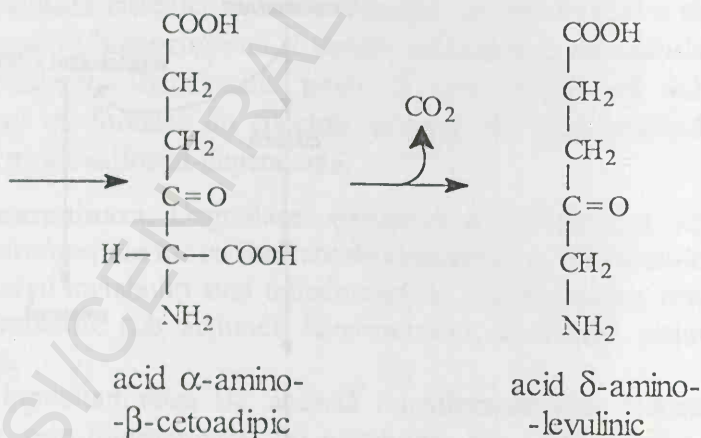
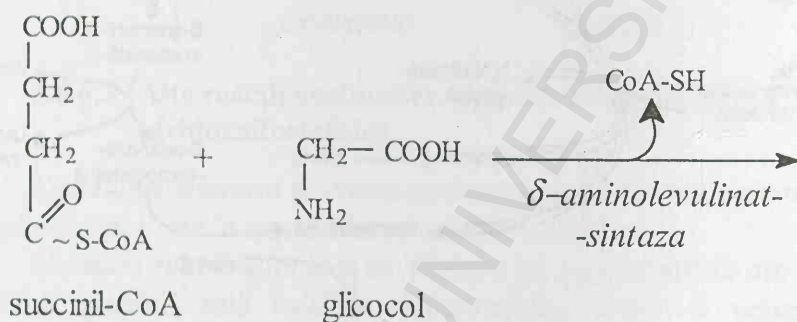


Figura 3.19. Biosinteza cisteinei prin utilizarea în calitate de precursor a metioninei.

În afară de piridoxalfosfat, această enzimă necesită și prezența NAD^+ -ului, acidului lipoic și acidului tetrahidrofolic:



Prima etapă în biosinteza hemului și porfirinelor constă în condensarea glicocolului și succinil-CoA sub acțiunea δ -amino-levulinat-sintetazei:



Activitatea scăzută a acestei enzime este responsabilă de anemia macrocitară și hipocromă la subiecții cu hipovitaminoză B₆.

Racemazele aminoacizilor sunt, de asemenea, enzime piridoxal-fosfat-dependente. Cum organismul uman și al mamiferelor nu posedă sistemele enzimatice specifice metabolismului D-aminoacizilor, racemazele nu se întâlnesc, de regulă, în aceste organisme.

3.6.7. Necesarul de vitamină B₆

Necesitățile de vitamină B₆ la mamifere și om sunt greu de determinat, pe de o parte datorită faptului că această vitamină este prezentă în majoritatea alimentelor de origine animală și/sau vegetală, iar pe de altă parte datorită existenței unei surse de piridoxină endogenă, sintetizată de bacteriile saprofite din tubul digestiv.

Cu toate acestea, OMS recomandă un aport de 2,0 – 2,2 mg/zi pentru adulți și, respectiv, 25 – 30 mg/kg corp/zi pentru copii. Aportul zilnic de piridoxină trebuie să fie, însă, mai mare la vârstnici, femei însărcinate și care alăptează, precum și în unele stări patologice. Normele OMS din anul 2003 prevăd doze zilnice bine determinate de piridoxină pentru fiecare categorie de vârstă (tabelul 3.14).

Tabelul 3.14

Doza zilnică recomandată de vitamină B₆ în funcție de vârstă, și sex*

Subiecți	Vârsta	Fete/Femei (mg/24 ore)	Băieți/Bărbați (mg/24 ore)
Nou-născuți	0–6 luni	0,1	0,1
Copii	7–12 luni	0,3	0,3
Copii	1–3 ani	0,5	0,5
Copii	4–8 ani	0,6	0,6
Adolescenți	9–13 ani	1,0	1,0
Adolescenți	14–18 ani	1,2	1,3
Adulți	19–50 ani	1,3	1,3
Adulți	Peste 50 de ani	1,5	1,7
Femei însărcinate	Orice vârstă	1,9	–
Femei care alăptează	Orice vârstă	2,0	–

* OMS, 2003 (Freeman, 2004).

3.6.8. Tulburări de aport vitaminic

Datorită largii răspândiri a piridoxinei în alimente, hipo- și avitaminoza B₆ la om nu este de origine pur nutrițională ci, de cele mai multe ori, ea rezultă ca urmare a interacțiunii mai multor factori: nutriționali, farmacologici, genetici și factori de mediu. Pentru a ilustra acțiunea combinată a acestor factori este suficient să amintim următoarele situații de risc carențial la populația lumii „civilizate”:

- alcoolismul cronic și drog-dependența la bolnavii spitalizați, asociate cu condiții nutriționale modeste;
 - tratamentul cu izoniazidă la alcoolicii cronici;
 - hemodializa la subiecții cu insuficiență renală supuși unui regim hipocaloric și hipoproteic;
 - sarcină după întreruperea recentă a unui tratament contraceptiv prelungit cu estroprogestative;
 - sarcină la femei tratate cu antagoniști ai vitaminei B₆;
 - poliuria este o posibilă cauză pentru deficiența de vitamină B₆.
- Manifestările deficitului vitaminic rămân mult timp la nivel biochimic, iar simptomele clinice apar mai târziu și nu sunt specifice.

3.6.8.1. Manifestările clinice și biochimice ale hipovitaminozei B₆ experimentale

Hipovitaminoza B₆ experimentală la animalele de laborator se manifestă prin homocistinurie datorată deficitului de *cistation-sintetază* și *cistationază*, acidurie xanturenică prin deficit de *kinureninază*, anemie microcitară și hipocromă (activitate scăzută a *δ-amino-levulinat-sintetazei*), convulsii datorate scăderii cantității de acid *γ-aminobutiric* cerebral prin diminuarea activității *glutamat-decarboxilazei*, neuropatii periferice cu degenerescența nervilor, ganglionilor spinali și coarnelor posterioare ale măduvei spinării.

Carența de piridoxină poate cauza boli ale nervilor, infarcturi, probleme dermatologice și dureri în zona gurii.

La om, hipovitaminoza B₆ apare, de cele mai multe ori, după tratamente îndelungate cu antagoniști ai piridoxinei și se manifestă prin stagnare ponderală, anemie microcitară și hipocromă, convulsii, dermatită seboreică, homocistinurie etc.

Datorită dereglării procesului de biosinteză, se observă și o perturbare a biosintezei acizilor nucleici, a proliferării celulare etc., ceea ce explică anomaliile imunitare și umorale.

La copii, lipsa vitaminei B₆ poate duce la convulsii, anemie, vărsături și dureri abdominale.

3.6.8.2. Cauzele hipovitaminozei B₆

Hipovitaminoza B₆ observată la om nu ajunge niciodată la un grad de complexitate atât de avansat încât să determine simptomatologia caracte-

ristică animalelor de experiență avitaminizate. Dereglările produse rămân mult timp la nivelul deficiențelor biochimice descrise mai sus.

a. Alcoolismul cronic

Deficitul de vitamină B₆ este foarte frecvent la alcoolici. Concentrația plasmatică, precum și nivelul hepatic al tuturor formelor structurale ale vitaminei B₆ sunt mult diminuate la aproximativ jumătate din alcoolicii cronici. În asemenea cazuri, hipovitaminoza este cauzată de un aport insuficient, malabsorbție dar, mai ales, de o perturbare a metabolismului la nivelul conversiei piridoxalului în forma sa coenzimatică.

S-a demonstrat capacitatea alcoolului de a inhiba activitatea *piridoxin-kinazei* și accelerarea catabolismului piridoxalfosfatului de către produșii de oxidare a alcoolului (în special acetaldehida) care dislocă coenzima din complexul său cu albumina serică și activează *fosfatazele alcaline* membranare.

Pentru alcoolicii cronici, este extrem de dificilă evaluarea simptomelor cauzate de deficitul de piridoxină comparativ cu simptomele alcoolismului: neuropatii periferice, comițialitate, dereglări psihiatrice, anemie hipocromă etc. Cu toate acestea, administrarea zilnică de vitamină B₆ are o acțiune benefică indiscutabilă asupra modificărilor hematologice și neurologice.

b. Hipovitaminoza B₆ cauzată de interacțiuni medicamentoase

Multe medicamente folosite pentru tratamentul diferitelor maladii interferă cu piridoxina și derivații săi, determinând apariția simptomelor de hipovitaminoză. Izoniazida (hidrazida acidului izonicotinic) este un medicament larg utilizat în tratamentul tuberculozei. Acest preparat prezintă inconvenientul de a reacționa cu piridoxalfosfatul cu formarea unei hidrazone lipsite de activitate vitaminică.

Un tratament de durată determină apariția simptomelor de hipovitaminoză, în special neuropatia periferică. Anticoncepționalele cu administrare orală, ca de altfel toți steroizii, accelerează procesul de biosinteză a *triptofan-pirolazei*.

Ca urmare, este accelerat catabolismul triptofanului pe calea kinureninei și, implicit, are loc o inducție a *kinureninazei*, deci se realizează consum sporit de piridoxalfosfat pentru această cale metabolică.

Paralel, se diminuează mult activitatea altor enzime PALP-dependente. De altfel, depresiile psihice și deranjamentele digestive ale femeilor care utilizează contraceptive orale se explică prin reducerea rezervei de triptofan necesar biosintezei serotoninei în creier. S-a mai semnalat existența unor

interfețe între metabolismul vitaminei B₆ și cel al hidralazinei, cicloserinei și D-penicilaminei.

c. Hipovitaminoza B₆ la bolnavii psihiici

Literatura de specialitate raportează unele observații clinice asupra unui mare număr de bolnavi psihiici spitalizați care pun în evidență o incidență relativ crescută (10%) a hipovitaminozei B₆. Analiza acestor cazuri a evidențiat acțiunea multiplă a mai multor factori ce determină carență vitaminică: alcoolismul, subnutriția, tratamentul medicamentos etc. Cercetările în acest domeniu nu sunt finalizate, dar se speră elucidarea într-un viitor apropiat a patologiei carențiale în psihiatrie pentru ameliorarea simptomelor caracteristice printr-o vitaminoterapie adecvată.

d. Hemodializa

Bolnavii cu insuficiență renală supuși hemodializei prezintă, în mod frecvent, riscul instalării stării de hipovitaminoză B₆. Necesarul zilnic în piridoxină al acestora este mult superior aportului recomandat adultului normal.

Cauzele ce determină hipovitaminoza persoanelor supuse în mod constant hemodializei nu sunt pe deplin elucidate. S-ar părea că, la acești pacienți, ar avea loc o inhibiție a fosforilării piridoxalului de către toxine care diminuează activitatea *piridoxal-kinazei* concomitent cu o activare a *fosfatazelor* ce hidrolizează piridoxalfosfatul. Unele tipuri de insuficiență renală se pot manifesta și prin alterarea imunității celulare curabile prin vitaminoterapie.

e. Sarcina și perioada neonatală

Perioada sarcinii este una din perioadele cele mai expuse riscului de hipovitaminoză B₆, ca de altfel oricărui alt tip de hipovitaminoză. Acest lucru se explică prin necesitățile crescute de piridoxină în timpul sarcinii. Aceste necesități sunt pe deplin satisfăcute atunci când există un gradient de concentrație de 1:5 în favoarea fătului, ceea ce explică epuizarea rezervelor din organismul matern destul de repede, care se manifestă prin binecunoscutele tulburări digestive ale femeii însărcinate.

Necesarul zilnic de vitamină B₆ este, de asemenea, crescut în perioada de alăptare, deoarece o anumită pondere a piridoxinei din organismul matern trece în lapte pentru satisfacerea necesității vitaminice a noului-născut.

f. „Sindromul restaurantului chinezesc”

Acesta este un sindrom nutrițional cauzat de absorbția intestinală a monoglutamatului de sodiu care intră în compoziția unor specialități din

bucătăria chinezească. El se manifestă prin senzație de arsură, călduri, rigiditatea membrelor, dureri de cap etc. Mai multe cercetări au arătat asocierea acestui sindrom cu hipovitaminoza B₆ la aproximativ 50% din cazuri.

3.6.8.3. Boli metabolice piridoxalfosfat-dependente

a. Homocistinuria PALP-dependență

Maladia metabolică PALP-dependență cea mai frecventă și cea mai bine studiată este homocistinuria prin deficit de *cistationin-sintetază*. Această enzimă catalizează reacția intermediară de formare a cistationinei în procesul de conversie a metioninei în cisteină. Deficitul de *cistationin-sintetază* determină homocistinuria „clasică” însoțită de luxația cristalinului, deformări osoase, complicații trombo-embolice și înapoiere mintală.

Din punct de vedere biochimic, se constată o acumulare considerabilă a metioninei și homocisteinei în sânge și urină.

Vitaminoterapia este eficientă doar la aproximativ 40% din bolnavi (doza administrată fiind de 250 – 500 mg/zi) și anume, la cei care prezintă o oarecare activitate enzimatică reziduală, fiind inefficientă la persoanele cu deficit total în *cistationin-sintetază*. Bolnavii sunt, de obicei, purtători ai unei mutații care reduce afinitatea dintre apoenzimă și piridoxalfosfat.

b. Cistationuria

Scindarea cistationinei cu formare de cisteină este o reacție hidrolitică catalizată de o altă enzimă piridoxalfosfat-dependență, numită *cistationază*. Deficitul acestei enzime determină un tablou clinic atipic, dar asociat întotdeauna cu retardarea mintală și comițialitate.

Majoritatea bolnavilor răspund pozitiv vitaminoterapiei cu doze farmacologice de piridoxină. Se pare că mutația ce determină maladia este responsabilă fie de reducerea afinității apoenzimei pentru piridoxalfosfat, fie de scăderea vitezei de biosinteză a apoenzimei.

c. Hiperornitinemia cu atrofia coroidiană și retiniană

Această maladie ereditară a metabolismului ornitinei se caracterizează prin creșterea considerabilă a concentrației serice de ornitină datorită deficitului în *ornitin-aminotransferază*, enzimă piridoxalfosfat-dependență. În general, prin vitaminoterapie se realizează o ameliorare clinică și o normalizare a ornitinemiei.

d. Oxaluria primară

Este cauzată, probabil, de deficitul de *α-cetoglutarat-glioxilat-carboli-gază*, enzimă implicată în calea de biosinteză a acidului glioxilic. Această

enzimă nu este piridoxalfosfat-dependentă, motiv pentru care reacția pozitivă la vitaminoterapie poate fi doar o consecință a transaminării acidului glicolic în glicocol.

e. Aciduria xanturenică

Este datorată deficitului de *kinureninază* PALP-dependentă care controlează catabolismul triptofanului. Bolnavii prezintă înapoiere mintală și eliminare masivă de acid kinurenic și xanturenic, kinurenină și 3-hidroxi-kinurenină.

f. Anemia sideroblastică familială

Au fost raportate anemii hipocrome familiale sensibile la vitamina B₆. Unele studii efectuate în Japonia pun în evidență un deficit de *δ-amino-levulinat-sintetază* eritocitară care este o enzimă piridoxalfosfat-dependentă ce participă la biosinteza hemului.

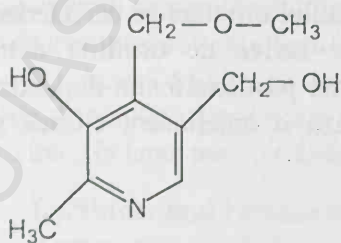
3.6.8.4. Hipervitaminoza B₆

Piridoxina este considerată ca fiind unul dintre medicamentele cele mai puțin toxice. Cu toate acestea, administrarea de doze foarte mari de vitamină B₆ (2 – 4 g/zi) timp de câteva luni poate determina neuropatie periferică senzitivă cu ataxie. Simptomele dispar la stoparea tratamentului cu preparate vitaminice.

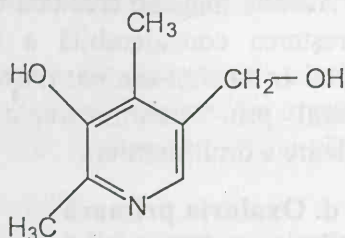
O supradoză de piridoxină poate cauza o blocare temporară a anumitor nervi, precum nervii proprioceptori; aceasta cauzează, la rândul ei, sentimentul de lipsă a anumitor organe, efect normal pentru pierderea propriocepției.

3.6.9. Antivitamine B₆

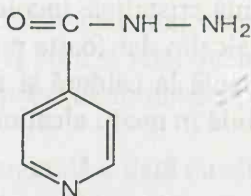
Numeroase substanțe cu structură chimică asemănătoare piridoxinei au fost testate din punctul de vedere al activității lor antivitaminice. Dintre acestea, activitate antimetabolică netă prezintă 4-metoxipiridoxina, deoxipiridoxina și hidrazida acidului izonicotinic:



4-metoxi-piridoxina



deoxipiridoxina



hidrazida
izonicotinică

3.7. Biotina (Vitamina H, vitamina B₈, coenzima R)

3.7.1. Generalități

Biotina sau vitamina B₈ (unii autori o denumesc vitamina B₇) a fost descoperită de către *Kögl* în 1934 în timpul cercetărilor sale asupra așa-numitului **Bios II**. Autorul arată că biotina este unul din constituenții factorului Bios II izolat din gălbenușul de ou și că reprezintă un factor de creștere pentru drojdia de bere.

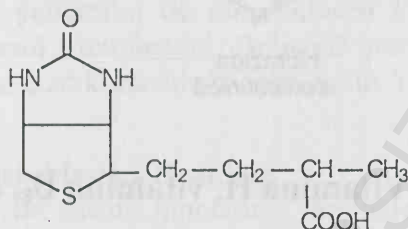
Câțiva ani mai târziu, *West* și *Wilson* arată că așa-numita coenzimă R cu rol în stimularea creșterii și respirației la *Rhizobium trifolii* este identică cu biotina și cu factorul **Bios II B** studiați de *Kögl*.

Cercetări ulterioare au arătat faptul că factorii izolați din gălbenușul de ou și, respectiv, ficatul de șobolan prezintă proprietăți chimice și caracteristici biologice foarte apropiate dar au structuri chimice diferite. În urma determinării punctului de topire și a activității optice, factorul izolat din gălbenușul de ou a fost numit α -biotină, iar cel provenit din ficat β -biotină. Structura chimică a biotinei a fost apoi confirmată în urma sintezei sale de către *Harris* și *Fölkers* în 1943.

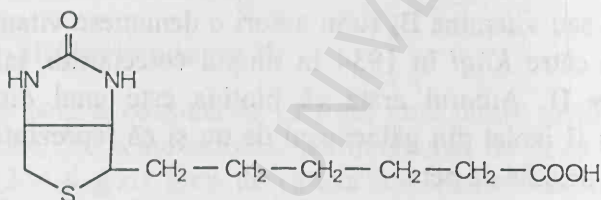
3.7.2. Structura chimică și proprietățile biotinei

Structurile chimice ale α -biotinei, β -biotinei și biocitinei (cel mai des întâlnit derivat natural al biotinei) au fost stabilite în urma studiului produșilor de hidroliză, a oxidării cu diferiți agenți oxidanți etc. În ficat, rinichi, pancreas, sânge etc. există o enzimă specifică – *biotinolaza* – care hidrolizează biocitina (și alți derivați naturali ai biotinei) cu formare de biotină și lizină.

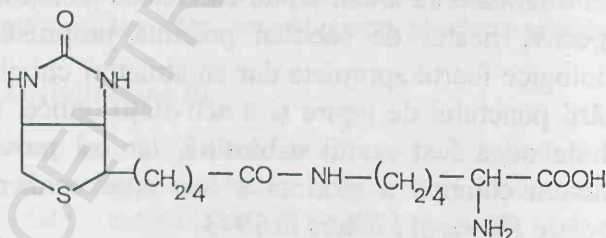
Biotina este o substanță cristalină, incoloră, solubilă în apă și alcool. Este ușor solubilă în mediu alcalin dar foarte puțin solubilă în mediu acid și în solvenți organici. Este stabilă la căldură și față de oxigen, precum și în soluții acide și mai puțin stabilă în medii alcaline.



α -biotina



β -biotina



biocitina

3.7.3. Stare naturală

Biotina este destul de larg răspândită în regnul animal și vegetal, atât în stare liberă cât și sub forma unor derivați.

Cantități mari de biotină se găsesc în drojdia de bere (aproximativ 90 $\mu\text{g}/100\text{ g}$). Majoritatea alimentelor de origine animală și vegetală conțin

cantități satisfăcătoare de biotină. Cele mai bune surse alimentare de biotină sunt: ficatul, carnea de pasăre, porc și vită, ouăle, laptele, brânza, peștele (în special cel oceanic), varza, spanacul, tomatele, pâinea intermediară și neagră etc.

La biotina exogenă, ingerată o dată cu alimentele, se adaugă și forma endogenă reprezentată de biotina sintetizată de bacteriile saprofite ale tubului digestiv. La mamifere, biotina endogenă reprezintă o pondere ce nu poate fi neglijată în necesarul zilnic al organismului animal în această vitamină. Pentru om însă, se pare că biotina produsă de flora microbiană este în cantitate mică, neputând satisface nici pe departe cerințele organismului uman.

Mai trebuie menționat faptul că, deși gălbenușul de ou reprezintă una dintre cele mai bune surse de biotină pentru om, consumul exagerat de ouă crude determină apariția simptomelor de hipovitaminoză. Acest lucru se explică prin faptul că albușul de ou conține o proteină specifică numită *avidină*, capabilă să formeze cu biotina un complex ce nu poate fi absorbit la nivel intestinal.

Ca și în cazul altor vitamine, statisticile OMS indică conținutul în biotină al principalelor produse alimentare utilizate în mod obișnuit de către om (tabelul 3.15).

Tabelul 3.15

Conținutul în biotină (vitamină B₈) al unor produse alimentare*

Nr. crt.	Sursa alimentară	mg biotină / 100 g
1	Drojdie uscată	180 – 400
2	Ficat de oaie	120 – 140
3	Drojdie de bere	90
4	Ficat de vițel	75
5	Ficat de porc	27
6	Ouă	25
7	Ciuperci	12
8	Orez nedecorticat	12
9	Stridii	10
10	Avocado	10
11	Mazăre	7
12	Banane	5,5
13	Mușchi de porc	4,5
14	Tomate	4
15	Pâine integrală	4

* *L'Encyclopédie Médicale*, Paris, 2003.

3.7.4. Metabolismul biotinei

Metabolismul biotinei este strâns legat de o serie de transformări ale metabolismului intermediar, în special al acidului pimelic, al lizinei, alcaloizilor și altor biomolecule (fig. 3.20).

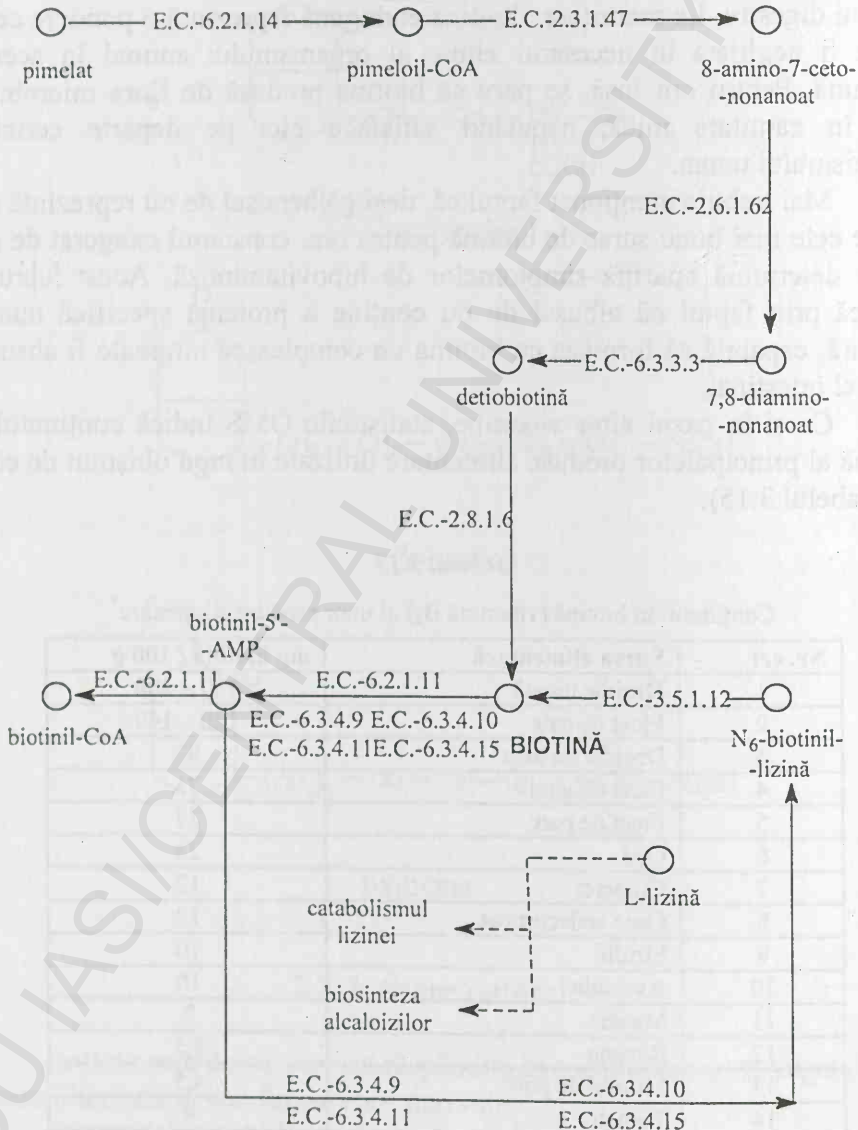


Figura 3.20. Reprezentarea schematică a transformărilor ce au loc în cadrul metabolismului biotinei (Metzler, 1977).

3.7.4.1. Biosinteza biotinei

Încă din 1942 s-a arătat că acidul pimelic este implicat în procesul de biosinteză a biotinei. *Eakin* descrie în aceeași perioadă un efect stimulator al acidului pimelic asupra biosintezei biotinei de către *Aspergillus niger*, acest efect fiind mult amplificat la adăugarea de cisteină și/sau cistină în mediul de incubare.

Dintre acizii dicarboxilici, doar acidul pimelic, acidul suberic și acidul azelaic au activitate stimulatorie asupra creșterii microorganismelor. Se presupune că acidul azelaic este convertit în acid pimelic, iar acesta este folosit ulterior în biosinteza de biotină.

Acidul lipoic activează încorporarea acidului pimelic în biotină, dar mecanismul prin care aceasta se realizează nu este elucidat. Prin utilizarea izotopilor radioactivi s-a demonstrat încorporarea de $^{14}\text{CO}_2$ în carbonul urcidic și carbonul carboxilic al biotinei.

Pe baza datelor experimentale obținute s-a considerat că cisteina, pimenil-CoA și carbamil-fosfatul joacă, de asemenea, rol de precursori în biosinteza biotinei.

3.7.4.2. Absorbția intestinală

Pentru om se poate considera că întreaga cantitate de biotină necesară este de origine exogenă, dat fiind faptul că vitamina produsă de bacteriile saprofite ale tractului intestinal este în cantitate foarte mică. Biotina din alimente se găsește preponderent sub formă legată de proteine prin intermediul grupărilor ϵ -amino ale resturilor de lizină din catenele polipeptidice.

Nefiind vorba de o legătură peptidică între biotină și proteine ci de o legătură amidică, peptidazele intestinale nu pot hidroliza această legătură în vederea eliberării vitaminei. Sucul pancreatic conține însă o enzimă specifică – *biotinidaza* – ce face parte din clasa hidrolazelor și care scindează legătura amidică biotină-lizină din complexii vitamino-proteici, eliberând vitamina din alimente în lumenul intestinal.

Mecanismul absorbției intestinale a biotinei este puțin cunoscut la om. În lucrările lor, *Grasset et al.*, raportează unele date experimentale obținute pe material biptic din intestinul subțire provenit de la mai mulți copii, prin care arată că biotina este absorbită sub forma sa liberă la nivelul jejunului și ileonului proximal contra gradientului concentrației sale, în prezența sodiului.

La o concentrație de aproximativ 10^{-5} M în lumenul intestinal, biotina se acumulează în celulele din peretele jejunului atingând concentrații intracelulare de peste 2,6 ori mai mari. Aceste date sugerează că absorbția biotinei în eritrocitul uman se realizează prin transport activ, prezentând toate caracteristicile acestui tip de transport: vehiculare contra gradientului de concentrație, afinitate înaltă, Na^+ -dependență, stereospecificitate și selectivitate pentru D-biotină și inhibiția absorbției analogilor structurali (biocitina, detiobiotina etc.).

Etapale metabolismului intraenterocitar al biotinei nu sunt pe deplin elucidate. Studii cromatografice ale ^{14}C -biotinei, acumulate în preparatele bioptice din intestinul subțire normal, arată faptul că vitamina se găsește sub formă liberă. Nu s-a pus în evidență până în prezent existența unui metabolism intraenterocitar specific sau a legării biotinei de proteine, specifice sau nu, din enterociclu.

Cu toate acestea nu este exclus ca o anumită parte din rezerva de biotină să se găsească totuși legată de proteine în timpul fazei intracelulare a absorbției. S-a detectat o activitate *biotinidazică* puternică în intestinul subțire uman, nelegată de marginea în perie, dar care nu intervine în procesul de acumulare intracelulară a vitaminei. Acest aspect a fost confirmat prin acumularea normală a biotinei în celulele preparatelor bioptice din intestinul subțire provenit de la copii cu deficit total de *biotinidază*.

3.7.4.3. Circulația biotinei

Biotina este vehiculată de către sânge atât sub formă liberă cât și sub formă legată de proteinele serice (albumină, globuline), dar până în prezent nu s-a pus în evidență existența unor proteine vector specifice. Biotina liberă reprezintă aproximativ 20% din biotina plasmatică totală.

La adulți biotinemia crește în perioada imediat următoare meselor, revenind la valoarea normală după 1,0 – 1,5 ore. Este interesant că la copii, începând cu perioada neonatală până la pubertate, biotinemia este practic constantă (0,58 – 0,14 ng/ml) chiar și după mese.

Sângele vehiculează biotina spre organe și țesuturi. Până în prezent literatura de specialitate nu raportează date privind repartiția biotinei în organism. Se presupune că țesutul hepatic conține rezerve importante ale acestei vitamine deoarece la copiii cu deficit total de *biotinidază*, nu apar simptome ale insuficienței carboxilazelor decât după 10 – 15 zile de la întreruperea completă a vitaminoterapiei.

3.7.4.4. Activarea biotinei

Pentru îndeplinirea rolului său de cofactor, biotina trebuie să interacționeze cu apoenzimele carboxilazelor. Activarea biotinei și fixarea ei pe apoenzimă reprezintă două etape importante ale metabolismului său ce au putut fi elucidate doar în urma studiului erorilor metabolice la subiecți care prezentau asemenea maladii ereditare.

Modul de legare a biotinei de apoenzimă este identic pentru toate carboxilazele biotin-dependente fiind vorba de o legătură covalentă de tip amidic ce se formează între grupa $-\text{COOH}$ a biotinei și gruparea ϵ -amino a unui rest de lizină din structura apocarboxilazei (fig. 3.21).

De fapt, există două situsuri de legare a coenzimei de apoenzimă: situsul I care este reprezentat de un rest de lizină din catena polipeptidică ce formează o legătură covalentă cu gruparea $-\text{COOH}$ a biotinei prin intermediul grupării sale $-\text{NH}_2$ libere și situsul II de legare unde se formează interacțiuni slabe între apoenzimă și oxigenul carbonilic al biotinei.

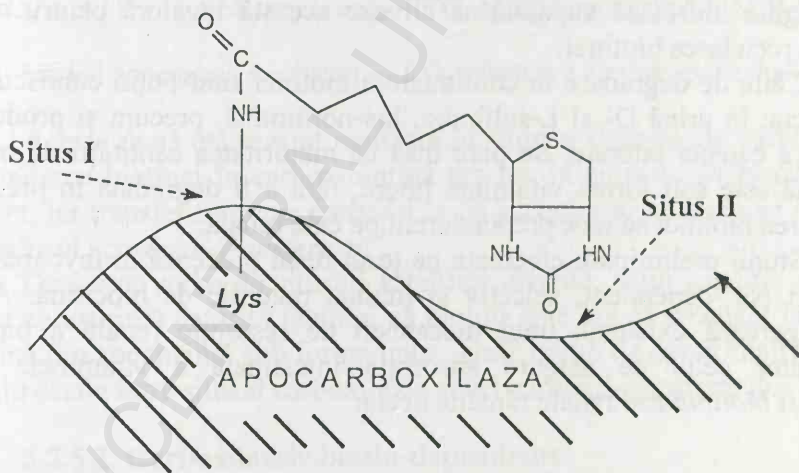
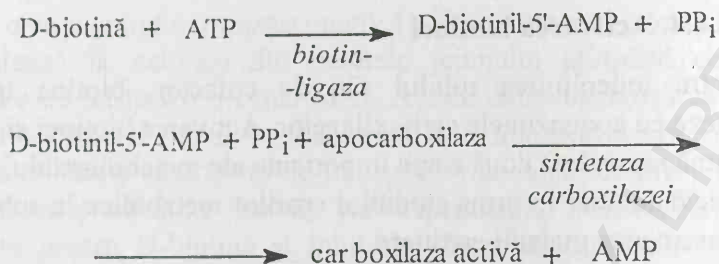


Figura 3.21. Legarea biotinei de apoenzimele enzimelor biotin-dependente (Utter and Sheu, 1980).

Fixarea biotinei pe aceste situsuri ale apocarboxilazelor este un proces enzimatic catalizat de o *sintetază* specifică ATP-Mg^{2+} -dependentă care există atât în mitocondrii (pentru *carboxilazele* mitocondriale) cât și în citosol (pentru *acetil-CoA-carboxilază*). Anterior fixării pe apoenzimă, biotina este activată sub formă de biotinil-AMP sub acțiunea unei *biotin-ligaze*:



AMP-ul rezultat este, apoi, reciclat în alte procese metabolice, fiind în special utilizat ca precursor în biosinteza de ATP.

3.7.4.5. Catabolismul biotinei

Carboxilazele, care sunt enzime biotin-dependente, pot fi degradate hidrolitic sub acțiunea unor peptidaze nespecifice. Deoarece legătura dintre coenzimă și apoenzimă nu este o legătură peptidică, biotin-lizina poate fi considerată ca fiind produsul de degradare al carboxilazelor. *Biotinidaza* este singura hidrolază capabilă să eliveze această legătură pentru a face posibilă reciclarea biotinei.

Căile de degradare în continuare a biotinei sunt puțin cunoscute. S-au detectat în urină D- și L-sulfoxizi, bis-norbiotină, precum și produși de oxidare a catenei laterale. Se pare însă că majoritatea cantității de biotină eliminată este sub forma vitaminei libere, fără a fi degradată în prealabil. Eliminarea biotinei se face preponderent pe cale renală.

Studii preliminare efectuate pe țesut renal pledează în favoarea unui transport Na^+ -dependent, selectiv și inhibat puternic de biocitină. Aceste date sugerează existența unui mecanism de resorbție renală a biotinei, asemănător celui ce asigură absorbția intestinală a vitaminei. Rolul activității *biotinidazei* renale rămâne neclar.

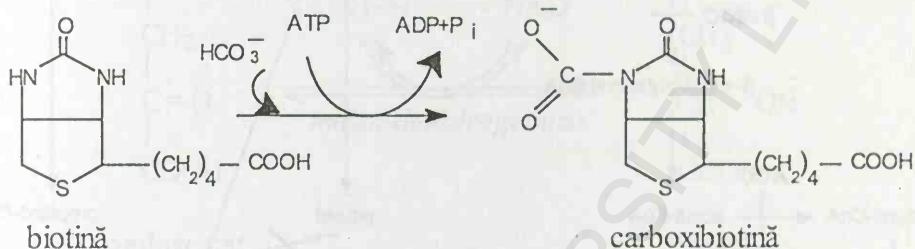
3.7.5. Rolul biologic al biotinei

Principala funcție biochimică a biotinei constă în rolul ei de coenzimă pentru *carboxilaze*, enzime ce catalizează incorporarea CO_2 în diferite substanțe cu formarea unor metaboliți intermediari importanți.

3.7.5.1. Mecanismul carboxilării biotinei

Pentru a participa la reacțiile de carboxilare, dioxidul de carbon este activat într-o primă fază prin fixarea sa pe biotină. Această reacție se poate

realiza atât prin utilizarea dioxidului de carbon ca atare cât, mai ales, a anionilor carbonat. Biotina, fixată pe apocarboxilaze prin legătură covalentă, fixează CO_2 sub forma unei catene laterale în prezența ionilor de magneziu și cu ajutorul energiei din ATP, cu formare de carboxibiotină:



Reacția de carboxilare a unui substrat are loc în două etape, prima etapă fiind întotdeauna carboxilarea cofactorului, ceea ce corespunde etapei de formare a complexului enzimă-substrat:



Acste două etape sunt realizate în situsuri diferite ale carboxilazei. Carboxilarea biotinei în carboxibiotină are loc în situsul „*carboxilazic*” al enzimei, iar transferul grupei carboxil la un acceptor al acestuia se realizează în situsul „*carboxil-transferazic*”.

Deși este vorba de situsuri catalitice diferite, actul catalitic se poate realiza cu ușurință datorită faptului că biotina este legată covalent la un rest de lizină din apoenzimă sub forma unui „braț” mobil de aproximativ 1,4 nm și poate oscila între situsul carboxilazic și cel carboxil-transferazic.

3.7.5.2. Carboxilazele biotin-dependente

Deși mecanismul carboxilării biotinei este comun tuturor enzimelor din această grupă, structura cuaternară, localizarea și efectorii enzimelor biotin-dependente sunt extrem de diferite. Astfel, *acetil-CoA-carboxilaza* este o enzimă citoplasmatică, în timp ce alte carboxilaze sunt localizate în mitocondrii.

Piruvat-carboxilaza este un tetramer de tip α_4 al cărui activator alosteric este acetil-CoA. *Propionil-CoA-carboxilaza* și *β -metil-crotonil-CoA-carboxilaza* sunt, de asemenea, tetrameri ($\alpha_2\beta_2$), activați de ionii metalelor bivalente. Principalele căi metabolice controlate de carboxilazele biotin-dependente sunt reprezentate schematic în figura 3.22.

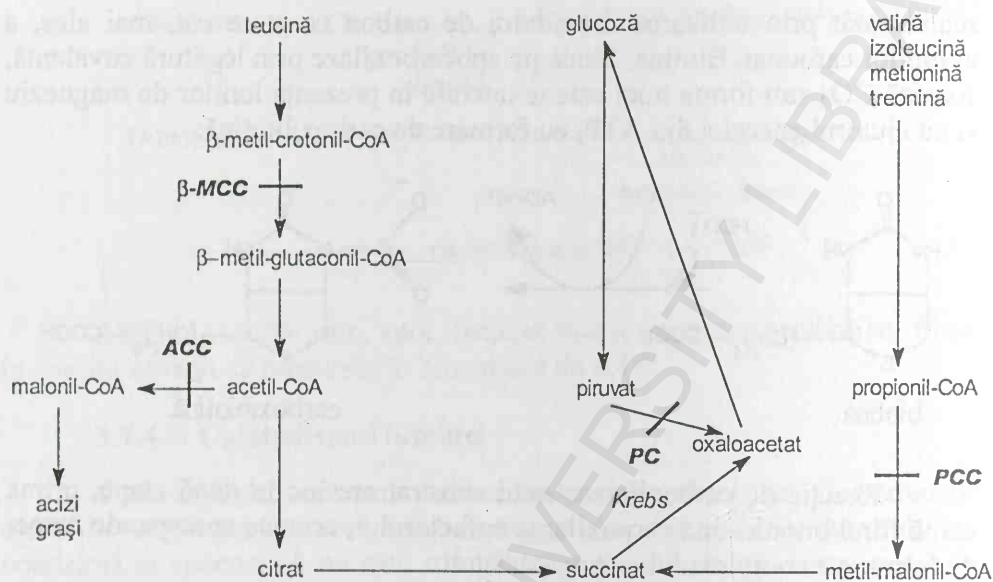
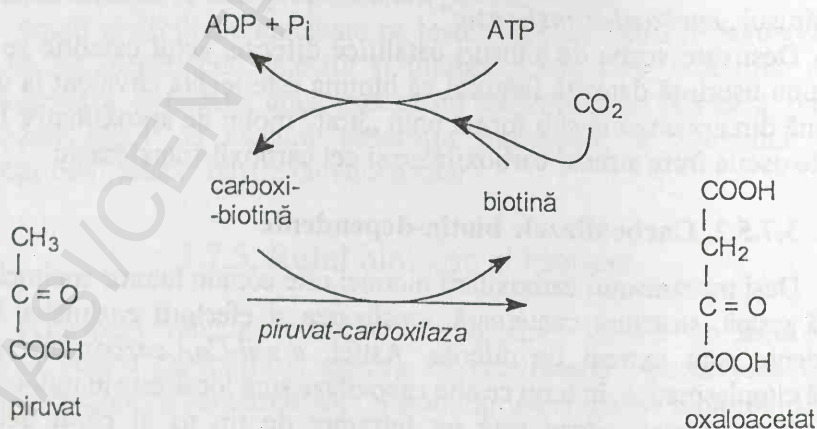


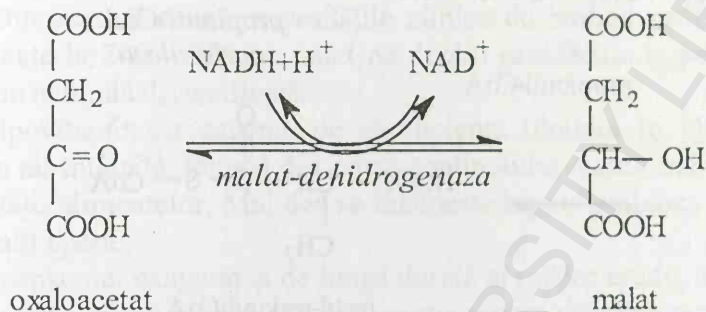
Figura 3.22. Principalele căi metabolice în care sunt implicate carboxilazele biotin-dependente (β -MCC- β -metil-crotonil-CoA-carboxilaza; PCC-propionil-CoA-carboxilaza; ACC-acetil-CoA-carboxilaza; PC-piruvat-carboxilaza).

Piruvat-carboxilaza catalizează reacția de conversie a piruvatului în oxaloacetat:



Această enzimă catalizează prima etapă a gluconeogenezei la nivel mitocondrial, etapele ulterioare având loc în citoplasmă. Cum membrana mitocondrială nu este permeabilă pentru oxaloacetat și NADH, etapa

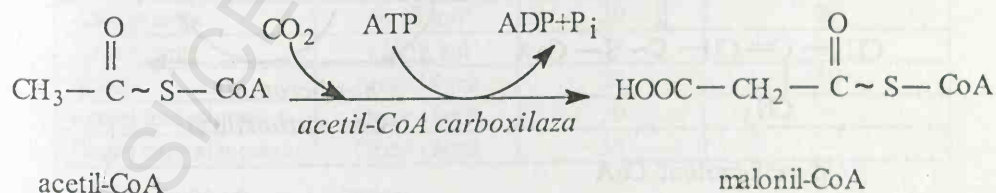
imediat următoare o constituie conversia oxaloacetatului în malat, acesta din urmă putând penetra membrana mitocondrială pentru a trece în citoplasmă:



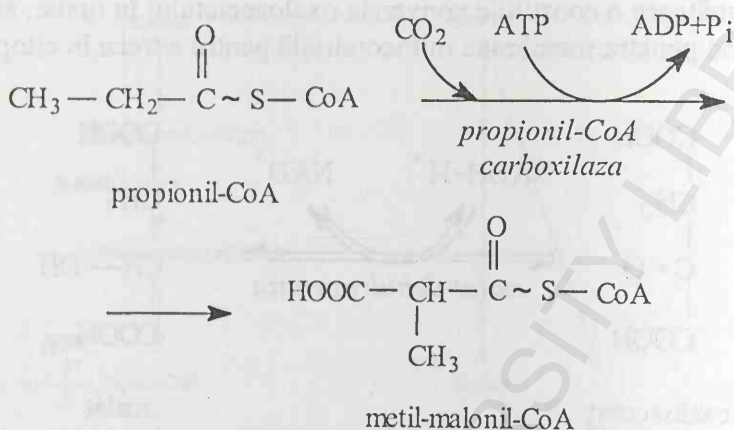
În citoplasmă are loc reacția inversă, când se regenerează acidul oxalilacetic.

Piruvat-carboxilaza joacă un rol la fel de important și în lipogeneză, proces ce are loc la nivel citoplasmatic, deși acetil CoA, precursorul acestei secvențe metabolice se formează în mitocondrii. Pentru a putea străbate membrana mitocondrială, acetil-CoA se condensează cu acidul oxalil-acetic generând acid citric. În citoplasmă, sub acțiunea *citrat-liazei*, are loc reacția inversă, pentru eliberarea acetil-CoA.

Acetil-CoA-carboxilaza catalizează prima reacție a căii de biosinteză a acizilor grași, când are loc carboxilarea acetil-CoA cu formare de malonil-CoA. Activitatea *acetil-CoA-carboxilazei* este controlată de insulină și citrat:



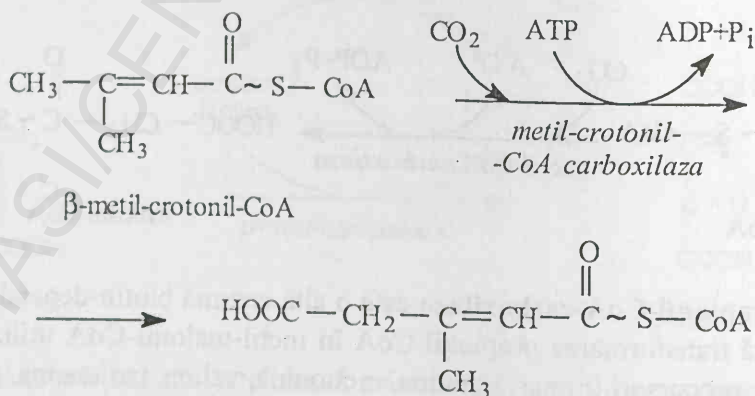
Propionil-CoA-carboxilaza este o altă enzimă biotin-dependentă ce catalizează transformarea propionil-CoA în metil-malonil-CoA utilizând în calitate de precursori primari treonina, metionina, valina, izoleucina, precum și acizii grași cu număr impar de atomi de carbon:



În urma acțiunii unor *mutaze* specifice, are loc o reacție de izomerizare în urma căreia metil-malonil-CoA este convertită în succinil-CoA, aceasta din urmă intrând în ciclul Krebs. Activitatea *propionil-CoA-carboxilazei* este inhibată de avidină.

β -metil-crotonil-CoA-carboxilaza. Este cunoscut faptul că acidul izovalerianic este degradat în organismele animale până la acetyl-CoA și acid acetilacetic. La rândul lui, acidul izovalerianic este un produs intermediar al metabolismului leucinei.

Sub acțiunea unor *dehidrogenaze* specifice, izovaleril-CoA trece în β -metil-crotonil-CoA. La acest nivel are loc mărirea catenei atomilor de carbon prin carboxilare, sub acțiunea *β -metil-crotonil-CoA-carboxilazei*, care este o enzimă biotin-dependentă:



β -metil-glutaconil-CoA

3.7.6. Necesarul de biotină

Biotina este relativ larg răspândită, atât în regnul vegetal cât și în cel animal. Din această cauză, necesitățile zilnice de biotină pentru om, care sunt evaluate la 200 – 300 μg , sunt pe deplin satisfăcute la persoanele cu alimentație naturală diversificată.

Hipovitaminoza cauzată de insuficiența biotinei în alimente este extrem de rar întâlnită, tocmai din cauza conținutului relativ mare de biotină al majorității alimentelor. Mai des se întâlnește hipovitaminoza biotinică în două situații aparte:

- consumul exagerat și de lungă durată al ouălor crude, când avidina din albuș complexează biotina, în urma acestui proces vitamina nemaiputând fi absorbită la nivel intestinal;

- nutriția parenterală exclusivă și nutriția enterală artificială de lungă durată. În ambele cazuri se impune cu acuitate un aport suplimentar de biotină sub forma preparatelor farmaceutice.

Normele OMS prevăd cantități bine determinate de biotină pe care omul trebuie să și le asigure prin alimentația zilnică (tab. XXV).

Tabelul 3.16

Doza zilnică recomandată de biotină în funcție de vârstă, și sex*

Subiecți	Vârsta	Fete/Femei ($\mu\text{g}/24$ ore)	Băieți/Bărbați ($\mu\text{g}/24$ ore)
Nou-născuți	0–6 luni	5	5
Copii	7–12 luni	6	6
Copii	1–3 ani	8	8
Copii	4–8 ani	12	12
Adolescenți	9–13 ani	20	20
Adolescenți	14–18 ani	25	25
Adulți	Peste 19 ani	30	30
Femei însărcinate	Orice vârstă	30	–
Femei care alăptează	Orice vârstă	35	–

* OMS, 2003 (Freeman, 2004).

3.7.7. Tulburări de aport vitaminic

Datorită largii răspândiri a biotinei în produsele alimentare, stările de hipovitaminoză cauzate de carența biotinică la om sunt extrem de rare, cu excepția situațiilor menționate mai sus.

Deși rare, stările carențiale au putut fi observate și descrise amănunțit, fiind astăzi cunoscut sindromul deficitului carboxilazic. Acest deficit se manifestă printr-o serie de simptome clinice caracteristice:

- acidoză metabolică însoțită de cetozurie;
- tulburări digestive, vărsături, anorexie și stagnarea creșterii;
- hipotonie cu ataxie, convulsii, retardare psihomotorie;
- alopecie, dermatite eritematoase, descumări care sunt preponderent periorificiale, glosită, cheilită, keratoconjunctivită, candidoză.

Din punct de vedere metabolic se observă:

- acidoză metabolică cu cetoză, hiperlactacidemie, hiperamoniemie și profil specific al aminoacizilor serici ca urmare a deficitului de *piruvat-carboxilază*;

- acidurie organică anormală cauzată, în special, de prezența acidului propionic și a derivaților lui (prin deficit de *propionil-CoA-carboxilază*), a acidului metil-crotonic și metil-crotonil-glicinic (prin deficit de *β -metil-crotonil-CoA-carboxilază*) etc.

Momentul și modul de apariție a simptomelor carențiale sunt în funcție de cauză. În stările de carență observate după nutriția parenterală prelungită, efectul administrării biotinei este puțin studiat. Se cunoaște însă că administrarea unei doze zilnice de 30 $\mu\text{g/kg}$ corp în nutriția parenterală conduce la prevenirea hipovitaminozei.

În cazul carenței vitaminice ca urmare a complexării biotinei cu avidina, s-a observat că instalarea unei hipovitaminoze profunde are loc după câteva luni de consum intens al ouălor crude.

3.7.8. Maladii metabolice prin deficit de carboxilaze

După prima descriere, în 1979, a unui caz de deficit multiplu de carboxilaze cu acidoză lactică congenitală, numărul maladiilor metabolice familiale din această categorie a crescut continuu. Un studiu statistic efectuat de *Hôpital des Enfants Malades* din Paris, arată că deficitul în carboxilaze reprezintă cauza cea mai frecventă a acidozei congenitale, majoritatea acestor acidoze rămânând încă inexplicabilă. S-a arătat că este vorba de o maladie metabolică pe deplin curabilă prin administrarea *per os* a biotinei pe tot parcursul vieții.

Simptomele clinice ale bolii sunt riguros identice cu cele observate în carența vitaminică descrisă mai sus. Simptomele cutanate sunt asociate cu

simptome neurologice și digestive, dând un tablou clinic stereotipic ce facilitează stabilirea diagnosticului.

Dacă toate simptomele deficitului multiplu de carboxilaze sunt prezente, diagnosticul poate fi confirmat prin dozarea lactemiei și aciduriei organice. În toate cazurile, instituirea vitaminoterapiei determină o evoluție spectaculoasă, primele semne de ameliorare putând să apară chiar și după câteva ore. Studii biochimice și genetice aprofundate au arătat că această boală metabolică curabilă poate fi cauzată de două anomalii genetice autosomale recesive distincte:

- a) deficitul în sinteza carboxilazelor;
- b) deficitul în biotinidază.

Deși are loc o dereglare a metabolismului biotinei în două puncte distincte, aceste două maladii genetice diferite produc unul și același sindrom similar cu cel al carenței alimentare în biotină.

Deficitul în sinteza decarboxilazelor se instalează ca formă acută în perioada neonatală, în timp ce, în cazul **deficitului în biotinidază**, boala se instalează mult mai târziu, în forma cronică. Cele două maladii mai diferă și prin nivelul biotinemiei. Astfel, biotinemia este normală sau ușor crescută în deficitul *sintetazei carboxilazelor*, în timp ce deficitul în *biotinidază* se manifestă prin biotinemie scăzută.

Mecanismul scăderii concentrației serice a biotinei în deficitul de *biotinidază* poate avea câteva explicații ce nu se exclud reciproc:

- a) dereglări de eliberare a biotinei din biocitina alimentară prin diminuarea sau lipsa biotinidazei pancreatice. În mod firesc, are loc o diminuare considerabilă a absorbției intestinale a biotinei. Administrarea pe cale orală a vitaminei (5 $\mu\text{g/kg}$ corp) conduce la restabilirea biotinemiei, ceea ce demonstrează integritatea sistemului de absorbție intestinală;

- b) malabsorbția biotinei cu modificarea metabolismului intra-enterocitar al vitaminei;

- c) accelerarea eliminării pe cale renală a biotinei, al cărei mecanism rămâne incomplet elucidat.

3.7.9. Grupe de risc

Principalele grupe de risc în ceea ce privește apariția simptomelor de carență în biotină sunt același ca pentru majoritatea vitaminelor din complexul B:

- subiecți alimentați timp îndelungat parenteral, fără adaos de vitamine;
- persoane ce obișnuiesc să consume în mod constant ouă crude;

- subiecți supuși hemodializei;
- femei în vârstă și femei care alăptează;
- alcoolicii cronici;
- subiecți supuși tratamentului cu antiepileptice.

Observație! De regulă, tratamentul cu biotină este asociat cu vitamina B₅ pentru a împiedica căderea părului.

3.7.10. Antivitamine

Printre substanțele cu activitate antagonistă biotinei se numără atât analogi structurali, cât și substanțe cu structură chimică total diferită. Astfel, oxibiotina care este analogul oxigenat al biotinei, precum și acidul oxibiotinsulfonic și derivații lui sunt anatagoniști foarte activi ai biotinei.

Cea mai cunoscută antivitamină cu structură chimică total diferită de cea a biotinei este avidina, o proteină din albușul de ou capabilă să formeze cu biotina un complex stabil ce nu poate fi absorbit la nivel intestinal. Capacitatea de complexare este destul de mare (3 moli biotină/mol avidină), iar complexul format este stabil față de acizi, tripsină, proteaze pancreatice, hepatice, sanguine etc.

3.8. Vitamina B₁₂ (cobalamina, factorul antipernicios)

3.8.1. Generalități

Primele observații asupra existenței vitaminei B₁₂ au fost făcute în 1926 de către *Minot* și *Murphy* care atestă faptul că ficatul crud, consumat în cantități mari, are o acțiune curativă în anemia pernicioasă (citată de *Dumitru*, 1970).

A urmat o perioadă de cercetări intense de aproximativ 20 de ani care au condus la izolarea din ficat a acestei vitamine de către *Folkers* și *Rickers* (SUA) care o denumesc vitamina B₁₂ și, respectiv, *Smith* (Anglia), independent unii față de alții. Aceste cercetări au fost mult ușurate de observația că *Lactobacillus lactis* necesită vitamina B₁₂ în calitate de factor de creștere indispensabil.

Utilizarea acestei vitamine în scop terapeutic a devenit posibilă după ce s-a observat că unele tulpini de *Streptomyces griseus*, *Streptomyces olivaceus*, *Bacillus megaterium* etc. sunt capabile să sintetizeze și să

utilizeze în mediul de cultură cantități importante de vitamină B₁₂. Structura chimică a acestei vitamine a fost elucidată abia în 1955 de către *Told, Dorothy, Crowfoot-Modkin* și alții. În prezent, preparatele farmaceutice de vitamină B₁₂ se obțin ca produs secundar în tehnologiile de fabricare a streptomycinei.

3.8.2. Structura chimică și proprietățile vitaminei B₁₂

Structura chimică a vitaminei B₁₂ este extrem de complexă, ceea ce a determinat unele probleme privind nomenclatura (fig. 3.23).

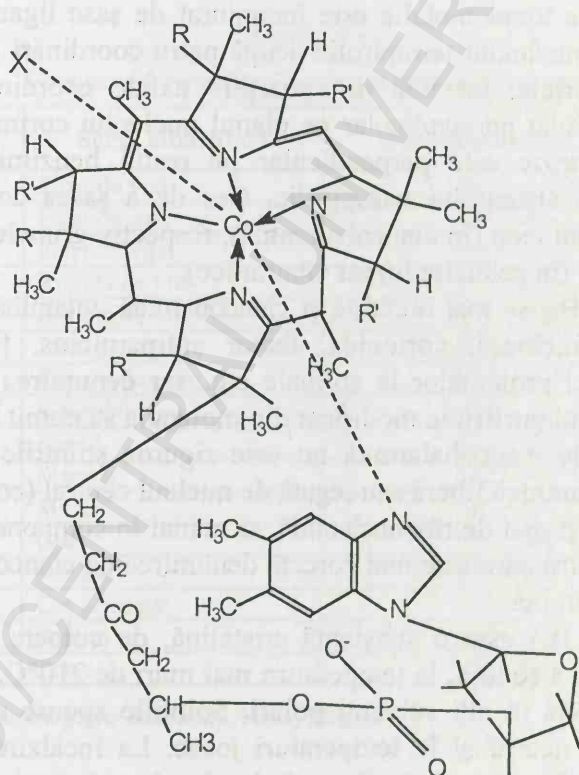


Figura 3.23. Structura chimică a vitaminei B₁₂ (R: -CH₂-COOH; R': -CH₂-CH₂-COOH). Radicalul X poate fi: -CN în ciancobalamină; -OH în hidroxicobalamină; -CH₃ în metilcobalamină și, respectiv, radical adenzil în adenzil-cobalamină.

Vitamina B₁₂ propriu-zisă, denumită și ciancobalamina, este α -5,6-dimetil-benzimidazolil-cobamida, a cărei moleculă este constituită din următoarele elemente:

– un nucleu corinic format din patru cicluri pirolice ce prezintă, în calitate de catene laterale, opt grupări metil, trei resturi de acetamidă și patru resturi de propilamidă;

– un nucleotid format din 5,6-dimetil-benzimidazol, un rest de riboză în forma sa furanozică și un rest de acid ortofosforic;

– un ion trivalent de cobalt localizat în centrul nucleului tetrapirolic;

– un radical cian ($-\text{CN}$), coordonat la ionul metalic central. Pentru celelalte forme ale vitaminei B_{12} , radicalul $-\text{CN}$ poate fi înlocuit cu gruparea $-\text{OH}$ (hidroxicobalamină), $-\text{CH}_3$ (metilcobalamină) sau cu un rest adenozil (adenozilcobalamină) etc., fără modificări concludente ale activității vitaminice.

Cobalamina poate fi considerată drept un complex de coordinare al cobaltului, în care ionul metalic este înconjurat de șase liganzi. Cei patru atomi de azot ai nucleului tetrapirolic ocupă patru coordonări ale cobaltului în poziții ecuatoriale, iar una din pozițiile axiale coordonează nucleul benzimidazolic situat perpendicular pe planul nucleului corinic, în timp ce nucleul ribofuranozic este perpendicular pe restul benzimidazolic, deci paralel cu planul sistemului tetrapirolic. Cea de a șasea coordonare este satisfăcută de ionul cian (în ciancobalamină), respectiv grupele $-\text{OH}$, $-\text{CH}_3$, adenozil, $-\text{Cl}$ etc. (în celelalte forma vitaminice).

Vitamina B_{12} se mai numește și ciancobamidă, vitamina antianemică, vitamina antipernicioasă, corionida, factor antipernicios, factor anemic extrinsec, factorul proteinelor la animale etc., iar denumirea de corionidă provine de la inelul porfirinic modificat din molecula sa numit inel corinic.

Numele de ciancobalamină nu este riguros științific deoarece nu conține grupare aminică liberă sau legată de nucleul central (corinic), nici de atomul de cobalt și nici de ribonucleotidă, ci numai în componența grupărilor amidice, fapt pentru care este mai corectă denumirea de ciancobamidă decât cea de ciancobalamină.

Vitamina B_{12} este o substanță cristalină, de culoare roșie care se descompune, fără a se topi, la temperaturi mai mari de 210°C . Este solubilă în apă și insolubilă în alți solvenți polari. Soluțiile apoase sunt stabile la întuneric, la pH neutru și la temperaturi joase. La încălzire, în prezența luminii, sau la pH acid sau alcalin, cobalamina în soluție se descompune. Este instabilă în prezența agenților reducători.

3.8.3. Stare naturală

Spre deosebire de celelalte vitamine, sursa exclusivă, pentru om, de vitamină B_{12} exogenă o constituie alimentele de origine animală. Plantele nu

necesită cobalamină pentru creșterea și dezvoltarea lor, din care cauză această vitamină nu este sintetizată și nu se găsește în legume și fructe, cu excepția celor fermentate datorită contaminării bacteriene. De aceea, regimul strict vegetarian poate da simptome de hipovitaminoză B₁₂, dar nu și simptome de avitaminoză.

Cele mai bune surse de cobalamină, pentru om, le reprezintă alimentele ce conțin ficat (în special ficat de vacă și pasăre), pește, ouă, brânzeturi, carne slabă de vițel, porc și pasăre, lapte etc.

Conform datelor publicate de Enciclopedia Medicală din Paris în 2003, cele mai bune surse de cobalamină pentru om sunt ficatul și rinichii (tabelul 3.17).

Tabelul 3.17

Conținutul în vitamină B₁₂ al unor produse alimentare*

Nr. crt.	Sursa alimentară	mg vitamină B ₁₂ / 100 g
1	Ficat de vită	1100 – 1200
2	Ficat de oaie	600 – 650
3	Ficat de vițel	600 – 630
4	Rinichi de vită	350 – 400
5	Rinichi de vițel	250 – 300
6	Ficat de găină	200 – 220
7	Rinichi de porc	150 – 160
8	Scumbie	140 – 160
9	Stridii	140 – 160
10	Macrou	100 – 120
11	Morun	80 – 100
12	Crab	80 – 100
13	Sardele	80 – 100
14	Caș proaspăt	70 – 90
15	Somon	60 – 70
16	Ton	30 – 50

* *L'Encyclopédie Médicale*, Paris, 2003.

3.8.4. Metabolismul cobalaminei

3.8.4.1. Biosinteza vitaminei B₁₂

Cobalamina este sintetizată de numeroase microorganisme din sol, mai ales de specii ale genurilor *Mycobacteria* și *Rhizobium*. Vitamina B₁₂ mai este sintetizată și de microflora intestinală a omului și mamiferelor.

Secvența metabolică de biosinteză a nucleului tetrapirolic are drept precursori glicocolul și succinil-CoA, care, în urma unui șir de reacții, formează, în calitate de produs intermediar, acidul δ -aminolevulinic. O etapă importantă a acestei căi metabolice o constituie formarea porfobilinogenului.

Alți metaboliți ce intervin în biosinteza cobalaminei sunt metionina în calitate de donor de grupări metil, apoi treonina, acidul folic, acidul *p*-aminobenzoic etc.

Există numeroase microorganisme ce nu pot sintetiza vitamina B₁₂, aceasta reprezentând, în acest caz, un factor de creștere. Cele mai cunoscute sunt *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus leichmanii*, *Escherichia coli* etc. Aceste tulpini sunt, de altfel, utilizate în metodele microbiene de determinare a vitaminei B₁₂.

3.8.4.2. Absorbția intestinală a vitaminei B₁₂

Vitamina B₁₂ din alimente este absorbită printr-un mecanism specific la nivelul ileonului, la acest mecanism participând atât stomacul prin mediul său acid, cât și pancreasul prin proteazele sucului pancreatic. În prima etapă, cobalamina este eliberată din alimente datorită acidității gastrice.

Tot în stomac, vitamina B₁₂ se leagă apoi de așa-numita proteină R de origine salivară și gastrică. Proteinele de tip R sunt complecși glicoproteici cu o afinitate înaltă față de cobalamine.

În intestinul subțire, proteazele pancreatice hidrolizează proteinele R, punând în libertate vitamina care este imediat complexată de așa-numitul factor intrinsec Castle.

Factorul intrinsec uman (F.I.) este secretat de celulele parietale ale stomacului (care secretă, în egală măsură, și acid clorhidric) și este o glicoproteină cu masa moleculară de 44 000 Daltoni. În condiții normale, sucul gastric conține aproximativ 30 de unități ale factorului intrinsec/ml, o unitate fiind definită ca fiind egală cu cantitatea de F.I. capabilă să fixeze 1 ng de vitamină B₁₂.

Complexul cobalamină-F.I. se fixează prin componenta sa proteică de receptori specifici situați în peretele ileonului terminal. Aici ei sunt disociați, iar cobalamina pătrunde în celulele intestinale. Procesele ce au loc la nivel enterocitar sunt puțin cunoscute, dar existența unui decalaj de 8 până la 12 ore între fixarea complexului cobalamină – F.I. pe receptori ileonului și apariția cobalaminei în circulație, presupune existența unor reacții specifice. Vitamina B₁₂ este apoi vehiculată de către sângele portal (Sennett et al., 1981).

Acest mecanism limitează la 2 – 3 mg cantitatea de cobalamină alimentară ce poate fi absorbită. După acest proces, există o perioadă de 2 – 3 ore până ce noua doză de vitamină va penetra peretele intestinal. În cazul administrării orale de preparate vitaminice în doze mari, creșterea concentrației acesteia în lumenul intestinal poate determina și declanșarea unei absorbții pasive a cobalaminei în jur de 1% din doza ingerată.

3.8.4.3. Circulația și repartitia tisulară a cobalaminei

Cobalaminele sunt vehiculate în organism sub formă legată de trei proteine specifice numite transcobalamine I, II, III.

Transcobalamina I (TC I) este o glicoproteină specifică ce leagă majoritatea cobalaminelor circulante. Cum forma predominantă sub care circulă vitamina B₁₂ este metilcobalamina (60–70%), această glicoproteină va forma complexi de tipul metilcobalamină – TC I.

Rolul fiziologic al acestei proteine complexe este puțin studiat. Se cunoaște doar că are o perioadă de înjumătățire mare, iar complexii formați sunt greu disociabili. De aceea, vitamina B₁₂ transportată sub această formă nu este disponibilă pentru celule.

Transcobalamina II (TC II) este o β -globulină plasmatică a cărei concentrație în sânge este de 15–20 μ g/l și participă, preponderent, la transportul prin vena portă a vitaminei proaspăt absorbite, precum și la transportul acesteia între diferite compartimente ale organismului. TC II mai este necesară și transportului intracelular al vitaminei B₁₂.

Complexul TC II-B₁₂ este recunoscut de receptorii membranari specifici care fixează acești complexi prin intermediul componentelor lor polipeptidice. În faza următoare fixării pe receptori, complexii TC II - B₁₂ pătrund în celulă prin endocitoză, transcobalamina este degradată de proteazele lizozomale, iar vitamina este eliberată în citosol.

După acest proces, cobalamina este transformată fie în metilcobalamină la nivelul citosolului, fie în adenzil-cobalamină la nivel mitocondrial. Metilcobalamina reprezintă coenzima pentru *metionin-sintetază*, iar adenzilmetionina este coenzima *metil-malonil-CoA mutazei* mitocondriale.

Transcobalamina III (TC III) este o glicoproteină asemănătoare cu transcobalamina I și este sintetizată în granulocite. Complexul TC III - B₁₂ este mult mai ușor disociabil decât complexul TC I - B₁₂, el dispărând după câteva minute de circulație. Se pare că transcobalamina III este cea care asigură transportul vitaminei B₁₂ în țesutul hepatic și străbaterea peretelui hepatocitului.

Rezervele totale de cobalamină în organismul omului adult sunt estimate la 3–4 mg. O mare cantitate din rezerva de cobalamină este stocată în ficat. Alte organe și țesuturi sunt mai sărace în vitamină. Concentrația vitaminei B₁₂ în sânge este estimată la 450 pg/ml, mai ales sub formă de metilcobalamină, în timp ce vitamina B₁₂ tisulară este reprezentată, în proporție de 70–80%, de adenzilcobalamină și 20–30% de hidroxilcobalamină.

3.8.4.4. Eliminarea vitaminei B₁₂ din organism

Cobalamina se elimină din organism prin bilă, urină, diferite secreții și celule descuamate. S-a pus în evidență existența unui ciclu enterohepatic major. Cantitatea de cobalamină din bilă oscilează între limite foarte largi (90–1100 pg/ml), dar ea este reabsorbită aproape în totalitate la nivelul ileonului. La adultul hrănit în condiții normale, cu o dietă echilibrată, cantitatea totală de vitamină B₁₂ eliminată zilnic este de aproximativ 2 μg.

Cobalamina liberă este absentă în sânge și în alte compartimente ale organismului. De aceea, ea este filtrată la nivel glomerular și eliminată prin urină fără reabsorbție tubulară. O anumită cantitate de cobalamină se elimină în mod obligatoriu prin fecale, atât la bolnavii cu anemie pernicioasă cât și la subiecții sănătoși. Această cobalamină este reprezentată de vitamina sintetizată de flora intestinală.

3.8.5. Rolul biologic al cobalaminei

Vitamina B₁₂ conține o legătură reactivă C-Co, implicată în reacții catalizate de enzimele cobalamin-dependente care se referă la rearanjamente intramoleculare în care un atom de hidrogen este transferat direct între doi atomi adiacenți concomitent cu schimbul unui alt substituent, care poate fi un atom de carbon cu substituenții corespunzători, un atom de oxigen al unui alcool sau amină (reacții de izomerizare, reacții de transmetilare) etc. Aceste reacții joacă un rol major în cele mai importante secvențe metabolice, cele mai bine studiate fiind următoarele:

— **replicarea:** vitamina B₁₂ este implicată în clivarea grupei metil de la acidul metil-tetrahidrofolat cu formare de tetrahidrofolat utilizat de celulă în procesul de biosinteză a ADN-ului;

– **hematopoieza:** în măduva osoasă, vitamina B₁₂ este implicată în maturarea și multiplicarea globulelor roșii. În avitaminoză, insuficienta multiplicare celulară determină o creștere a taliei acestor celule (globule roșii gigantice – megalocite);

– **integritatea sistemului nervos:** carența în vitamina B₁₂ determină degenerescența sistemului nervos;

– **eficiența sistemului imunitar,** prin accelerarea biosintezei de anticorpi, crește considerabil în cazul unui aport zilnic normal de cobalamină.

3.8.5.1. Enzime cobalamin-dependente

Vitamina B₁₂ joacă un rol de cofactor pentru unele enzime ce participă la două tipuri de reacții de transmetilare în care cofactorul enzimatic este metilcobalamina și reacții de izomerizare la care participă adenzil-cobalamina.

În organismul uman, au loc doar două reacții în care este implicată cobalamina: metilarea homocisteinei și, respectiv, izomerizarea metil-malonil-CoA cu formare de succinil-CoA.

a. Metilarea homocisteinei în metionină este, în același timp, cobalamin-dependentă (fig. 3.24).

Procesul constă în biosinteza metioninei din homocisteină prin transferul unei grupări metilice, sub acțiunea *5-metil-tetrahidrolat-homocistein-metil-transferazei*. În această reacție, rolul cobalaminei constă în acceptarea radicalului metil cu formare de metil-cobalamină.

Donorul acestei grupări este S-adenzil-metionina, iar cobalamina suferă concomitent două transformări: reducere și metilare. În etapa următoare, radicalul metil este cedat de metil-cobalamină homocisteinei.

b. Izomerizarea metil-malonil-CoA este o reacție catalizată de *metil-malonil-CoA-mutază*, o enzimă adenzil-cobalamin-dependentă. Metil-malonil-CoA este un produs intermediar al catabolismului valinei, izoleucinei, metioninei și treoninei. În urma procesului de izomerizare, se formează succinil-CoA care intră în ciclul acizilor tricarboxilici (fig. 3.25).

Participarea cobalaminei la această reacție este confirmată și de faptul că, în carența de vitamină B₁₂, are loc o blocare a acestei transformări, iar acidul metil-malonic se acumulează în sânge, fiind eliminat pe cale renală. Evaluarea cantității de metil-malonat în urină stă, de altfel, la baza unuia din testele de determinare a hipovitaminozei B₁₂.

3.8.5.2. Rolul cobalaminei în hematopoieză

La om, carența vitaminică B_{12} determină apariția anemiei megaloblastice ce prezintă aceleași caractere ca anemia secundară prin deficit de acid folic. Acest lucru pune problema existenței unor eventuale interconexiuni între metabolismele celor două vitamine. Studiul rezervelor de acid folic în anemia pernicioasă dă unele argumente ce pledează în favoarea acestei interrelații:

- anemia megaloblastică dispare în urma administrării de acid folic, fără a se administra și vitamină B_{12} ;

- eliminarea de acid formiminoglutamic este stopată prin tratament, fie cu acid folic, fie cu vitamină B_{12} ;

- conținutul în folat intraeritrocitar este normal sau ușor scăzut.

Acest din urmă aspect pune problema rolului vitaminei B_{12} în transportul intracelular al acidului folic. În același timp, se poate presupune că această discordanță este rezultatul utilizării defectuoase a acidului metil-tetrahidrofolat în cazul carenței vitaminei B_{12} .

3.8.5.3. Rolul cobalaminei în sistemul nervos

În afară de anemia pernicioasă, carența în cobalamină mai determină, la om, instalarea neuropatiei. Aceasta constă într-o dereglare degenerativă a nervilor periferici, a cordoanelor laterale și posterioare ale măduvei spinării și chiar a creierului. Leziunile ce apar sunt determinate de procesul de demielinizare ce poate fi reversibil dacă se intervine cu un tratament specific precoce.

3.8.5.4. Ipoteze fiziopatologice privind rolul cobalaminei

a. Blocarea metiltetrahidrofolatului

Reacția de biosinteză a metioninei prin utilizarea homocisteinei în calitate de precursor este cuplată cu conversia metil-tetrahidrofolatului în acid tetrahidrofolat.

În carența cobalaminică, această reacție este blocată sau decurge cu viteze mici, ceea ce determină acumularea de metil-tetrahidrofolat în detrimentul celorlalți derivați ai acidului folic. Cum, însă, metilen-tetrahidrofolatul și formil-tetrahidrofolatul sunt absolut indispensabili biosintezei bazelor azotate purinice și pirimidinice, în asemenea cazuri au loc modificări la nivelul replicării ADN-ului, mai cu seamă în celulele medulare.

Dacă această ipoteză poate explica creșterea concentrației de metil-tetrahidrofolat circulant în anemia pernicioasă netratată, nu justifică însă și deficitul simultan al acestui derivat al acidului folic la nivel tisular.

b. Cobalamina și folat-poliglutamații

Derivații poliglutamici ai acidului folic îndeplinesc rol de cofactori, a căror biosinteză poate fi dependentă de vitamina B₁₂. Deficiențele conversiei metil-tetrahidrofolat-monoglutamatului pot explica absența CH₃-THF în celule în cazul carenței vitaminice B₁₂.

Indiferent de modalitatea de implicare a cobalaminei în metabolismul acidului folic, în măduva spinării au loc deficiențe majore în maturarea și multiplicarea nucleară, în timp ce biosinteza hemoglobinei nu decurge normal.

Insuficiența mitotică antrenează o creștere a taliei celulelor, ceea ce se traduce morfologic prin prezența în măduvă a megaloblaștilor cu nucleu puțin diferențiat și citoplasmă bogată în hemoglobină. În sângele periferic, megaloblaștii formează megalocite.

c. Cobalamina și neuropatia

Anomaliile responsabile de neuropatie sunt, probabil, prea diferite între ele. Sistemul nervos necesită, pe lângă alți factori, și derivați ai acidului folic care sunt deficitari în hipovitaminoza B₁₂ (în lichidul cerebrospinal concentrația acidului folic și a derivaților săi este de aproximativ trei ori mai mare decât în sânge).

d. Cobalamina și imunitatea

Absența biosintezei de anticorpi observată în carența vitaminică B₁₂ este legată de imposibilitatea producerii clonelor limfoide necesare stimulării răspunsului imun.

Cercetări recente atestă faptul că administrarea *per os* a unor doze de 10 – 40 mg vitamină B₁₂ înaintea ingerării de sulfiți (substanțe utilizate în industria alimentară în calitate de conservant) blochează complet reacțiile alergice cu o eficiență net superioară unor medicamente de tipul atropinei, doxepinei, cromoglicatului de sodiu etc.

Vitamina B₁₂ administrată injectabil poate înlocui, cu succes, multe preparate anti-inflamatorii nesteroidice în tratamentul artrozei membrelor superioare.

3.8.6. Necesarul de cobalamină

Necesitățile zilnice ale omului în vitamină B₁₂ sunt considerate a fi echivalente cu cantitatea de cobalamină ce compensează pierderile normale datorate eliminării prin urină și bilă, în așa fel încât să se mențină rezervele organismului între limite normale. Pentru adolescenții și adulții ce consumă o dietă naturală echilibrată, acestea sunt evaluate la 2 – 5 μg/zi.

Pentru țările industrializate unde, în consumul uman, predomină alimentele cu grad înalt de rafinare, OMS recomandă un aport zilnic mediu de cobalamină de 4 – 7 μg , cu oscilații între 3 și 32 $\mu\text{g}/\text{zi}$ în funcție de calitatea alimentelor. Conform unor date publicate de OMS în 2003, necesarul zilnic de cobalamină oscilează între 0,4 și 2,8 μg în funcție de vârstă, sex și particularități fiziologice (tabelul 3.18).

Tabelul 3.18

Doza zilnică recomandată de vitamină B₁₂ în funcție de vârstă și sex*

Subiecți	Vârsta	Fete/Femei ($\mu\text{g B}_{12}/24$ ore)	Băieți/Bărbați ($\mu\text{g B}_{12}/24$ ore)
Nou-născuți	0–6 luni	0,4	0,4
Copii	7–12 luni	0,5	0,5
Copii	1–3 ani	0,9	0,9
Copii	4–8 ani	1,2	1,2
Adolescenți	9–13 ani	1,8	1,8
Adolescenți	14–18 ani	2,4	2,4
Adulți	19–50 ani	2,4	2,4
Adulți	Peste 50 de ani	2,4 ^{**}	2,4 ^{**}
Femei însărcinate	Orice vârstă	2,6	–
Femei care alăptează	Orice vârstă	2,8	–

*OMS, 2003 (Freeman, 2004).

** Cifrele indicate la această categorie de vârstă se referă la necesarul suplimentar de cobalamină față de cel provenit din alimente, datorită scăderii, odată cu vârsta, a capacității de absorbție intestinală.

3.8.7. Tulburări de aport vitaminic

3.8.7.1. Simptomatologia clinică a hipovitaminozei B₁₂

Hipovitaminoza B₁₂ debutează cu astenie, anorexie și stare generală proastă. În formele mai grave, se instalează anemia și unele afecțiuni neurologice și cutanate.

a. Anemia

Este datorată hipovitaminozei B₁₂ și este responsabilă de paloarea specifică asociată cu o stare subicterică și dispnee în efort.

Aproape totdeauna este prezentă și o simptomatologie cardiacă prin suflu sistolic simplu sau, în formele mai grave, insuficiență cardiacă. Anemia reprezintă simptomul ce poate decela hipovitaminoza B₁₂ precoce.

b. Afecțiunile neurologice

Dintre afecțiunile neurologice, cea mai frecventă este neuropatia, în insuficiența prelungită de cobalamină. Este vorba de o neuropatie senzitivă bilaterală simetrică cu parestezii ce debutează la nivelul membrelor inferioare. La început intermitentă, ea devine permanentă extinzându-se progresiv la nivelul abdomenului și, mai rar, la antebrate. Acest tip de neuropatie se manifestă clinic și prin scăderea sensibilității superficiale și profunde.

Dereglările psihice sunt frecvente și constau în pierderea memoriei, iritabilitate, stări depresive. Hipovitaminoza B₁₂ determină foarte rar manifestări psihiatrice severe.

c. Afecțiunile cutanate

Sunt reprezentate prin glosită care se manifestă prin dureri ale limbii. Acest simptom este precedat de apariția unor plăgi eritematoase netede și uscate la nivelul limbii. În afară de paloarea caracteristică, se observă o pigmentare anormală a pielii, căderea părului și albirea precoce a acestuia.

3.8.7.2. Simptomatologia hematologică a hipovitaminozei B₁₂

În carența cobalaminică se observă, mai întâi, creșterea taliei eritrocitelor, uneori acesta rămânând mai multe luni sau chiar ani singurul simptom hematologic. Prolungirea stării de avitaminoză conduce apoi la anemie pernicioasă și leucotrombopenie. Acest lucru se întâmplă în anemia profundă ($< 2 \times 10^6/\text{mm}^3$) care este însoțită de trombopenie și leucopenie ($\text{GB} < 3000 \times 10^3/\text{mm}^3$) cu hipersegmentarea neutrofilelor și apariția de metamielocite gigant.

Din punct de vedere biochimic, se poate observa hiperbilirubinemie neconjugată secundară datorată hemolizei intramedulare. La nivel medular se observă megaloblastoză, cromatină punctiformă, metamielocite cu nucleu vacuolar etc.

3.8.7.3. Maladii metabolice ereditare

Metabolismul intracelular al vitaminei B₁₂ include etapele de activare a hidroxicobalaminei cu formarea coenzimelor *metil-malonil-CoA-mutazei* și *metionin-sintetazei*. Diferitele etape ale acestor transformări au fost puse în evidență mai întâi la bacterii, apoi în țesutul hepatic și, în final, în fibroblaștii umani. Biosinteza adenzil-cobalaminei este bine studiată, ea având loc în mitocondrii unde, după două etape de reducere, sub acțiunea *reductazelor* specifice are loc adenzilarea în prezență de ATP.

Biosinteza metilcobalaminei este mai puțin cunoscută. Ea are loc în citoplasmă necesitând, de asemenea, reducerea cobalaminei-Co(III) în cobalamină-Co(II). Metilcobalamina se formează, apoi, într-o reacție cuplată cu o metilare reductivă în prezența *metionin-sintetazei*.

3.8.8. Antivitamine B₁₂

Studiul antagoniștilor cobalaminei este complicat datorită faptului că acțiunea lor biologică este puternic influențată de condițiile în care acționează substanța cercetată. Una și aceeași substanță poate exercita, într-un anumit sistem de testare, o acțiune vitaminică, iar în alt sistem acțiune antivitaminică.

În cercetările pe culturi microbiene, același compus, în concentrații mari, poate inhiba creșterea microorganismelor, iar în concentrații mici o poate activa. Cu toate acestea, au fost identificate substanțe cu activitate antivitaminică B₁₂ ce pot fi împărțite în două grupe:

- **omologi structurali** ai vitaminei B₁₂ care se obțin prin transformarea resturilor de propilamidă din molecula cobalaminei în derivați substituiți la nivelul funcției amidice. Din această grupă fac parte și corionidele lipsite de atomul central de cobalt, care manifestă o activitate antivitaminică pronunțată;

- **heterologi structurali**, a căror acțiune antivitaminică se bazează pe mecanisme încă insuficient studiate. Aceștia pot împiedica absorbția vitaminei la nivelul tractului gastrointestinal sau transportul prin membranele celulare.

3.9. Acidul lipoic (acidul tioctic)

3.9.1. Generalități

Acidul lipoic este un acid cu sulf prezent în toate celulele vii unde joacă un rol cheie în metabolismul energetic. Având o capacitate antioxidantă însemnată, acidul lipoic prezintă avantajul de a fi amfifil, fiind ușor solubil în apă și, în același timp, solubil în grăsimi.

Putând acționa atât în mediu hidrofil cât și hidrofob, acidul lipoic poate fi considerat ca fiind un „antioxidant universal”. În același timp, acidul lipoic are capacitatea de a „recicla” parțial alți antioxidanți, în primul rând vitamina E, vitamina C și glutatitionul cărora le mărește durata de viață și eficacitatea. De asemenea, această vitamină este implicată în procesele de

detoxifiere, eliminând din organism ionii unor metale toxice cum ar fi arseniul, cadmiul și mercurul.

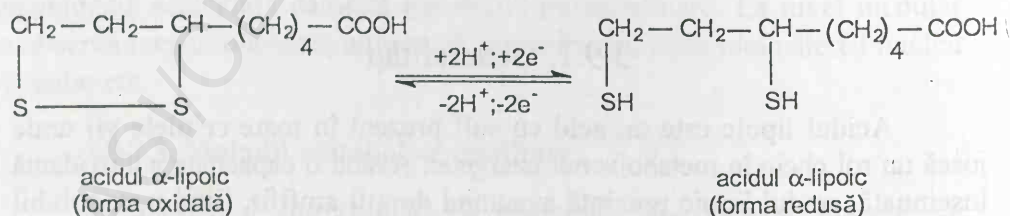
În condiții fiziologice normale, în organismul uman se găsesc mici cantități de acid lipoic ce ar putea asigura necesarul minim. Concentrația acidului lipoic endogen scade, însă, considerabil în diferite afecțiuni patologice (diabet, ciroză hepatică, boli cardiovasculare etc.) fiind obligatorie administrarea acestei vitamine ca supliment alimentar sau consumul unor cantități importante de alimente bogate în acid lipoic.

Acidul lipoic a fost descoperit întâmplător în anii 1930, când a fost considerat ca aparținând clasei vitaminelor. Cercetări ulterioare au demonstrat, însă, că organismul uman este capabil să sintetizeze cantitățile minime necesare ale acestui compus, dar, fiind deja intrată în uz această apartenență, este considerat și astăzi ca fiind o substanță cu acțiune vitaminică. În 1941, s-au făcut cercetări concomitent în mai multe laboratoare asupra acestui principiu activ.

Inițial, s-a observat că el este un factor de creștere pentru protozoarul *Tetrahymana geleii*, un factor ce înlocuiește acidul acetic necesar creșterii celulelor de *Lactobacillus casei* sau care stimulează creșterea la *Streptococcus lactis*. Cercetări ulterioare au arătat că factorul respectiv este acidul 6,8-ditio-n-octanoic care a fost denumit, în anul 1957, acid α -lipoic.

3.9.2. Structura chimică și proprietățile acidului lipoic

Datorită prezenței celor două grupe -SH în moleculă, acidul lipoic poate exista sub două forme structurale:

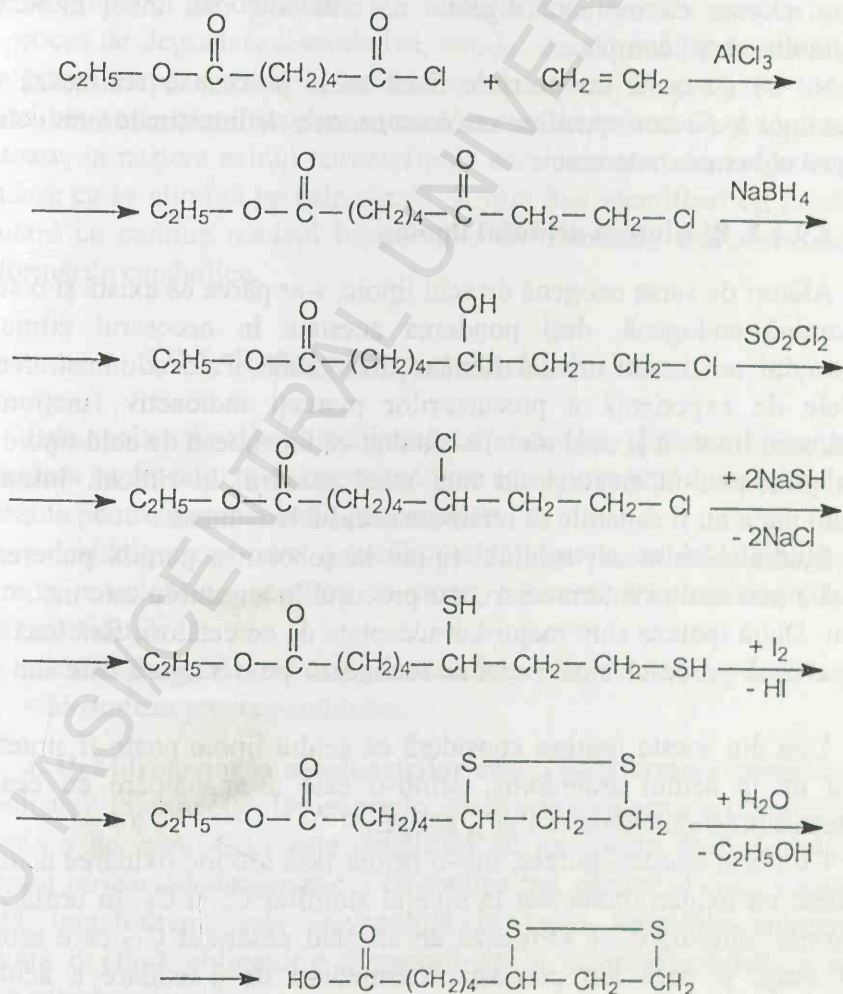


Prezența unui atom de carbon asimetric conferă acidului lipoic izomerie optică. Dintre cei doi antipozii optici, doar izomerul dextrogir prezintă activitate biologică. Forma oxidată a acidului lipoic este o substanță galbenă, cu absorbție caracteristică la 335 nm, condiționată de prezența heterociclului pentaatomic.

În natură, acidul lipoic nu se găsește liber în țesuturile vegetale, animale și în microorganisme, ci sub formă de disulfid, dimercapto sau mono-S-acil-mono-mercapto.

3.9.3. Sinteza chimică a acidului lipoic

Datorită structurii sale chimice relativ simple, acidul lipoic poate fi sintetizat chimic prin mai multe metode, în care se utilizează atât substanțe alifatiche, cât și aromatice. Cel mai adesea, pentru sinteza acidului α -lipoic racemic, se utilizează esterul etilic al clorurii de adipil și etenă:



3.9.4. Metabolismul acidului lipoic

Metabolismul acidului lipoic și, în special, absorbția la nivel intestinal, transportul și repartiția tisulară sunt incomplet elucidate la om.

3.9.4.1. Absorbția intestinală

Organismul uman ia acidul lipoic necesar proceselor sale metabolice din alimentele de origine animală și vegetală. Mecanismul absorbției intestinale a acidului α -lipoic este puțin cunoscut. Cum în natură această vitamină nu se găsește în stare liberă ci sub formă legată cu proteinele, este imperios necesar ca în tubul digestiv să aibă loc, mai întâi, eliberarea lipoatului din acești complecși.

Nu se cunoaște cu precizie dacă acest proces se realizează sub acțiunea unor *hidrolaze* specifice sau dacă *proteazele* intestinale sunt cele ce realizează eliberarea vitaminei.

3.9.4.2. Biosinteza acidului lipoic

Alături de sursa exogenă de acid lipoic, s-ar părea că există și o sursă de vitamină endogenă, deși ponderea acesteia în necesarul zilnic al organismului uman sau animal rămâne discutabilă. Prin administrarea la animalele de experiență a precursorilor marcați radioactiv (metionină, cisteină, acid linoleic și acid oleic) s-a arătat că biosinteza de acid lipoic are loc, în principal, în ficat și, în mai mică măsură, în rinichi. Inima și plămânul par a nu fi capabile să realizeze această biosinteză.

Studiul biosintezei acidului lipoic la șobolan a permis punerea în evidență a mai multor intermediari, dar procesul în ansamblu este incomplet elucidat. Două ipoteze sunt majoritar acceptate de cercetători, fără însă a se cunoaște dacă procesul biosintezei se realizează pe o singură cale sau mai multe.

Una din aceste ipoteze consideră că acidul lipoic poate fi sintetizat plecând de la acidul arahidonic, printr-o cale asemănătoare cu cea de biosinteză a prostaglandinelor PgF_{2x} și PGE_2 .

Conform acestei ipoteze, într-o primă fază are loc oxidarea acidului arahidonic cu oxigen molecular la nivelul atomilor C_6 și C_8 . În urma unor transformări ulterioare, se formează un alt acid nesaturat C_{12} care este, în același timp, și unul din produșii intermediari de β -oxidare a acidului linoleic. Ce-a de a doua ipoteză consideră acetyl-CoA drept precursor în

calea de biosinteză a acidului lipoic, cale în care metionina și cisteina reprezintă donorii de grupări tiolice.

3.9.4.3 Catabolismul și eliminarea acidului lipoic

Diferite etape ale degradării acidului lipoic au fost studiate în urma injectării de ^{14}C -lipoat la șobolani, în care atomul de carbon marcat era localizat fie în heterociclu (C_7 și C_8), fie la catena laterală (C_1 și C_6). După 24 ore de la administrare, circa 56% din radioactivitatea inițială este regăsită în urină.

Prin utilizarea tehnicilor cromatografice, s-au pus în evidență, în urină, doi produși de degradare a acidului lipoic. Aceștia rezultă în urma unui proces de degradare β -oxidativă, similar cu cel întâlnit la acizii grași. Într-o primă etapă a oxidării, sunt eliminați atomii C_1 și C_2 cu formarea acidului bis-norlipoic. Prin eliminarea atomilor de carbon C_3 și C_4 , în etapa următoare, ia naștere acidul tetranorlipoic care este unul dintre produșii de degradare ce se elimină pe cale renală. A mai fost identificat un produs de degradare ce conține nucleul heterociclic al vitaminei, foarte rezistent la transformările catabolice.

3.9.5. Rolul biologic al acidului lipoic

Principală funcție biochimică a acidului lipoic o constituie participarea sa, în calitate de coenzimă, la o serie de reacții de oxidoreducere importante pentru metabolismul intermediar:

- dehidrogenarea unor cetoacizi (acidul piruvic, acidul α -cetoglutaric, precum și α -cetoacizii rezultați în urma transaminării aminoacizilor cu catenă ramificată);
- biosinteza și degradarea glicocolului;
- biosinteza prostaglandinelor.

a. Dehidrogenarea α -cetoacizilor este o transformare importantă în metabolismul intermediar. De exemplu, reacția de oxidare a acidului piruvic cu formare de acetyl-CoA este catalizată de un sistem multienzimatic – complexul *piruvatdehidrogenazic* – ce conține trei enzime și cinci coenzime. Această transformare este ireversibilă în toate țesuturile animale și reprezintă o etapă obligatorie a trecerii de la calea glicolică la ciclul acizilor tricarboxilici.

Sistemul enzimatic izolat din inimă de porc este format din mai multe subunități: *piruvat-dehidrogenaza* (ce conține tiaminpirofosfatul în calitate de cofactor), *dihidrolipoat-transacetilaza* (cofactor - amida acidului lipoic) și *dihidrolipoil-dehidrogenaza* (cofactor FAD). Ceilalți doi cofactori (NAD^+ și coenzima A) fac parte din complexul enzimatic fără a fi legați de vreuna din cele trei enzime.

Acidul lipoic este legat covalent la nivelul grupării ϵ -amino libere a unui rest de lizină din secvența polipeptidică a apoenzimei sale. Decarboxilarea oxidativă a piruvatului decurge în mai multe etape, având loc succesiv o decarboxilare a acidului piruvic urmată de transferul radicalului acetyl pe coenzima A și reoxidarea amidei acidului lipoic (fig. 3.26).

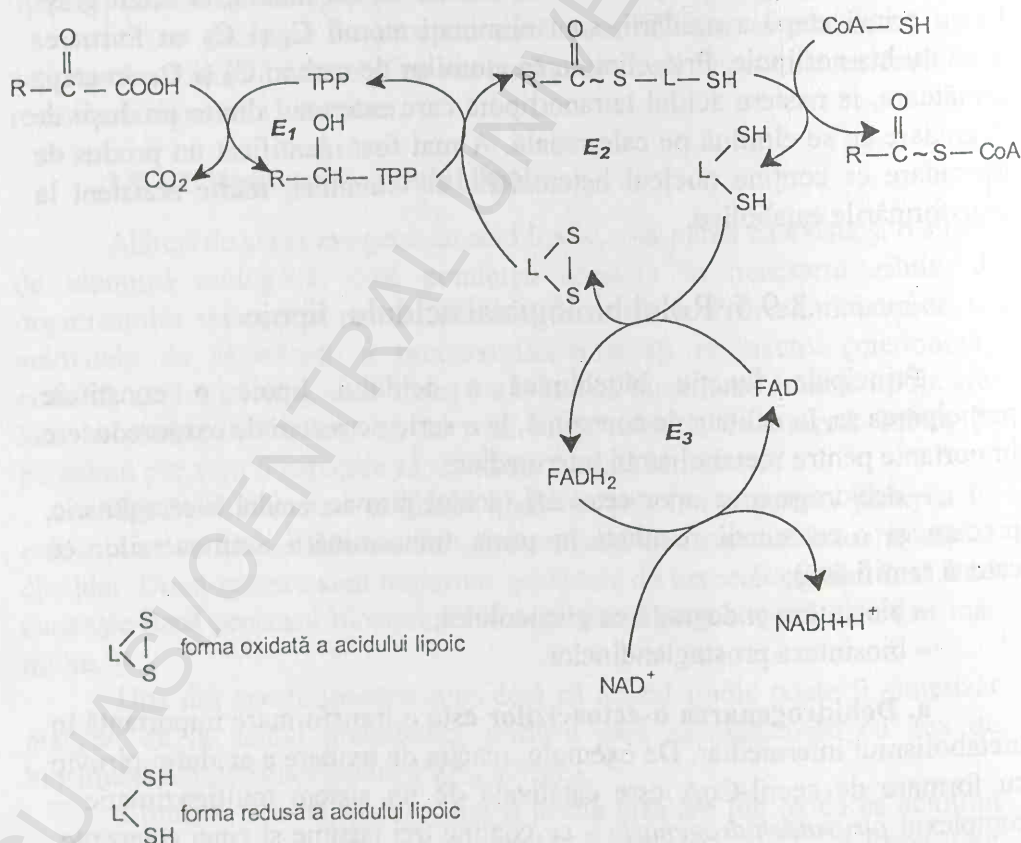


Figura 3.26. Decarboxilarea oxidativă a acidului piruvic (E_1 : piruvat-dehidrogenaza; E_2 : dihidrolipoat-transacetilaza; E_3 : dihidrolipoat-dehidrogenaza; TPP: tiamin-pirofosfat) (Kolotilova et al., 1976).

În prima etapă, are loc decarboxilarea piruvatului de către *piruvat-dehidrogenază* cu formarea radicalului hidroxietil legat de tiamin-pirofosfat. În etapa următoare, catalizată de *dihidrolipoat-transacetilază*, radicalul acetil este transferat la atomul de sulf de la C₆ al acidului lipoic, acesta trecând din forma oxidată în cea redusă. În cea de a treia etapă, are loc regenerarea lipoatului în forma sa oxidată prin transferul radicalului acetil la coenzima A, respectiv transferul atomilor de hidrogen la FAD.

O altă transformare importantă în metabolismul intermediar o constituie oxidarea acidului α -cetoglutaric cu formare de succinil-CoA. Această reacție este ireversibilă în celulele animale și este catalizată de complexul enzimatic al *α -cetoglutarat-dehidrogenazei*.

Mecanismul de reacție este identic, fiind necesară prezența aceluiași cofactori ca în cazul *piruvatdehidrogenazei*: TPP, coenzima A, NAD⁺, FAD și acid lipoic. Complexul multienzimatic al *α -cetoglutarat-dehidrogenazei* este asemănător, din punct de vedere structural, cu complexul *piruvat-dehidrogenazic*.

b. Rolul acidului lipoic în gluconeogeneză

În afară de rolul de cofactor jucat în reacțiile de degradare oxidativă a α -cetoacizilor, acidul lipoic mai joacă un rol important și în metabolismul glucidic. Studiul acestei funcții a fost declanșat după ce s-a observat că o creștere a concentrației acidului lipoic determină o accelerare a consumului de glucoză.

S-a mai observat că activitatea enzimelor implicate în glicoliză este influențată de diminuarea cantității de acetil-CoA liberă. Această scădere a nivelului celular de acetil-CoA antrenează o scădere a concentrației citratului care, la rândul lui, conduce la o activare a *fosfofructokinazei*.

Pe de altă parte, biosinteza glucozei din șase substraturi importante (piruvat, alanină, glicerină, dihidroxiacetonă, lactat și fructoză) este inhibată de acidul lipoic, gradul de inhibiție fiind dependent de concentrația acestei vitamine.

Acidul lipoic este capabil să stocheze acetil-CoA în mitocondrii sub forma complexă, din care cauză concentrația de acetil-CoA liberă este foarte mică. De aceea, are loc o încetinire a tuturor secvențelor metabolice în care este implicată acetil-CoA, în principal ciclul acizilor tricarboxilici, biosinteza acizilor grași și gluconeogeneza.

c. Rolul acidului lipoic în metabolismul glicocolului

Glicina este un aminoacid neutru neesențial a cărui degradare are loc, în principal, prin două căi:

– reacția de clivare a glicinei catalizată de un complex multienzimatic ce conține patru proteine (notate P, H, L și T) și numeroase coenzime printre care și acidul lipoic;

– interconversia serină-glicină (fig. 3.27).

Echilibrul reacției (2) este deplasat în sensul formării glicocolului, constituind principala cale de biosinteză a acestui aminoacid, reacția fiind catalizată de *serin-hidroximetil-transferază*.

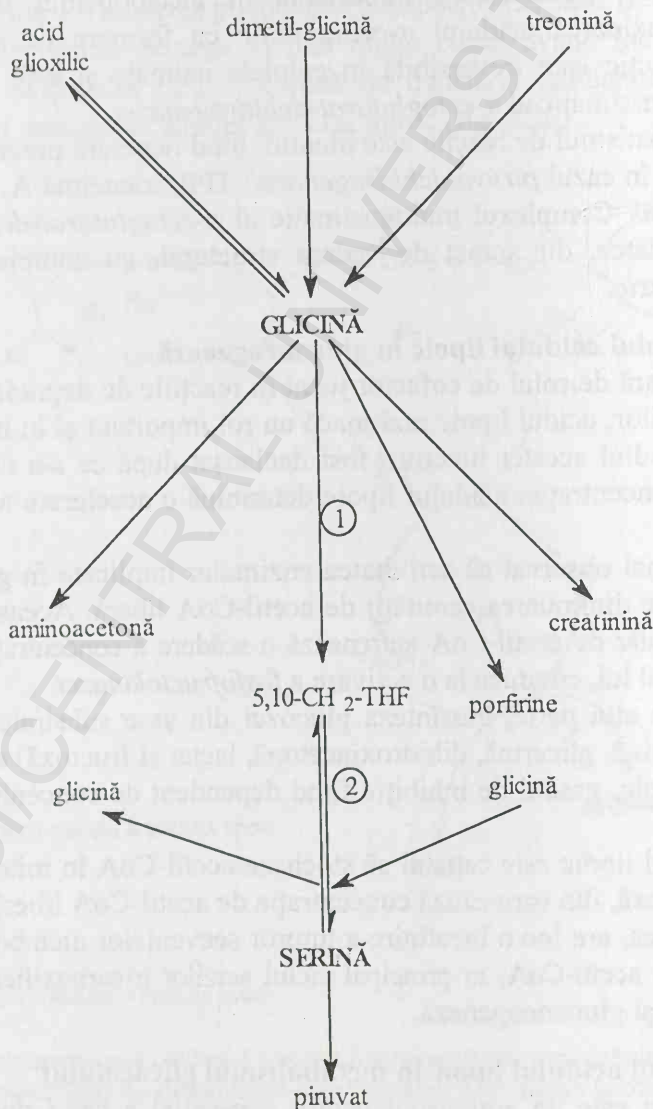


Figura 3.27. Reacția de intertransformare serină – glicină.

Printre celelalte reacții de biosinteză se numără și degradarea ireversibilă a treoninei în glicină și acetaldehidă sub acțiunea *glicinogenazei*. Dimetil-glicina este demetilată în sarcozină care, la rândul ei, suferă o nouă demetilare cu formare de glicină.

Acidul glioxilic poate fi transaminat în glicină sub acțiunea unor aminotransferaze specifice ce utilizează fie alanina, fie glutamatul drept sursă de grupări aminice. Și această reacție reversibilă funcționează, cu preponderență, în sensul formării glicinei.

Serin-hidroxiometil-transferaza este o enzimă cu specificitate redusă, putând cataliza un număr mare de transformări ale aminoacizilor și necesită piridoxalfosfatul în calitate de cofactor. În prezența acidului lipoic, această enzimă mai poate cataliza și o reacție de decarboxilare. Această reacție, cu totul excepțională, a fost studiată *in vitro* prin utilizarea glicinei în calitate de substrat.

În condițiile experimentului, *serin-hidroxiometil-transferaza* pare să diminueze rolul proteinei P din complexul multienzimatic specific clivării glicocolului și s-ar părea că ambele conțin piridoxal-fosfatul în calitate de coenzimă. Ambele enzime necesită prezența acidului lipoic, fie în stare liberă (pentru *serin-hidroxiometil-transferază*), fie în formă legată cu proteina H în reacția catalizată de proteina P.

d. Rolul acidului lipoic în biosinteza prostaglandinelor

Acidul lipoic pare să fie un activator al biosintezei prostaglandinelor, în special al PgF, la concentrații crescute ale acizilor grași nesaturați cu catenă lungă. La concentrații scăzute ale acestora, acțiunea acidului lipoic este inversă, de inhibare. Îndeplinirea acestei funcții se face prin mecanisme încă neelucidate, asupra cărora există doar unele ipoteze:

- o ipoteză a fost elaborată prin analogie cu puterea reducătoare a glutatationului asupra endoperoxizilor G și H, când acesta acționează în calitate de coenzimă pentru *endoperoxidiizomerază*;

- acidul lipoic poate stimula consumul de oxigen, modificând în felul acesta activitatea *ciclooxygenazei* prin modificarea parametrilor cinetici ai enzimei.

3.9.6. Necesarul de acid lipoic

Până în prezent, nu sunt stabilite cu exactitate necesitățile zilnice ale aportului alimentar de acid lipoic la om. Se cunoaște doar concentrația normală a acestuia în serul sanguin care trebuie să fie de $15,8 \pm 3,5$ mg/ml.

3.9.7. Tulburări de aport vitaminic

Simptomele clinice ale hipovitaminozei pot să apară ca urmare a dereglării metabolismului acidului lipoic, sau a modificărilor în activitatea enzimelor lipoat-dependente. Dereglarea metabolismului acidului lipoic, indiferent de nivelul la care are loc, va perturba derularea normală a reacțiilor catalizate de trei complecși enzimatici lipoat-dependenți: *piruvat-dehidrogenaza*, *α -cetoglutarat-dehidrogenaza* și *dehidrogenazele aminoacizilor* cu catenă ramificată.

Un exemplu concludent, în acest sens, îl constituie o anomalie genetică ce constă într-un deficit în *dihidrolipoil-dehidrogenază* care anulează posibilitatea reoxidării acidului lipoic utilizat în reacțiile de oxidare a α -cetoacizilor. Cum această enzimă este comună tuturor celor trei complecși multienzimatici, această anomalie se manifestă prin acidoză lactică (stoparea oxidării piruvatului în acetil-CoA conduce la acumularea de lactat), leucinoză (acumulare de aminoacizi cu catene ramificate) și, respectiv, acidurie α -cetoglutarică.

Prin administrarea de acid lipoic în doze zilnice de 200 mg la copii cu deficit congenital al enzimelor lipoat-dependente s-a observat o modificare importantă din punct de vedere clinic: normalizarea creșterii staturo-ponderale, dezvoltare psiho-motorie normalizată, dispariția aciduriei și reducerea sensibilă a acidozei lactice și piruvice etc.

3.10. Vitamina C (acidul ascorbic, vitamina antiscorbutică)

3.10.1. Generalități

De foarte mult timp era cunoscută o boală ce se manifesta prin hemoragii gingivale și subcutanate, scăderea rezistenței la infecții etc. Se pare că, încă din secolul V î.Ch., *Aristotel* cunoștea deja simptomele scorbutului. S-a observat că această boală apărea la persoanele care consumau timp îndelungat alimente conservate, fără aport de fructe și legume proaspete, boala fiind observată, se pare, încă de *Hipocrate*. În secolul XIII, războinicii Cruciadelor sufereau frecvent de scorbut, ceea ce a cauzat pierderi mari în ambele tabere în perioada de război. În 1227, *Gilbertus de Aquila* recomanda marinarilor să-și facă stocuri de fructe pentru a preveni îmbolnăvirea.

În anii 1500, europenii care colonizaseră America de Nord aveau probleme cu scorbutul. Indienii din zonă i-au ajutat cu un ceai din scoarță de copac și frunze de pin, care a remediat rapid situația. Întorși în Anglia, au vorbit despre leacul minune, dar „cercetătorii” au râs de asemenea „leacuri vrăjitoarești” neștiințifice.

Au trecut încă 200 de ani până la găsirea unui leac împotriva scorbutului de care sufereau mii de marinari. Încă din 1534, *Ericus Cordus* denumește această boală scorbut. Ea se manifesta preponderent la navigatori sau la soldații care făceau expediții îndelungate. Nevoia de a include plante proaspete sau carne crudă în alimentație pentru a preveni bolile a fost cunoscută încă din antichitate.

Popoarele native care trăiau în zonele marginale au adăugat aceasta în știința medicinei lor. De exemplu, infuzia de ace de molid sau de frunze ale copacilor rezistenți la secetă din zonele deșertice era utilizată în zonele temperate. În 1536, exploratorul francez *Jacques Cartier*, studiind râul Sf. Laurentiu, a folosit cunoștințele localnicilor pentru a salva viețile echipajului său care murea de scorbut. A fiert ace de tuia pentru a face ceai, care conțineau, așa cum s-a dovedit mai târziu, 50 mg de vitamină C la 100 grame.

De-a lungul istoriei, beneficiile plantei folosite ca aliment pentru supraviețuirea din asedii și călătorii lungi a fost recomandată de multe autorități. *John Woodall*, primul chirurg numit al Companiei Britanice Indiile de Est, recomandă folosirea de suc de lămâie ca aliment ce previne și vindecă scorbutul în cartea sa „*The Surgeon's Mate*” din 1617.

Scriitorul olandez *Johann Bachstrom* din Leyden, în 1734, a opinat că „scorbutul este datorat doar unei abținente totale de la alimente vegetale proaspete și legume, care este și cauza primară a acestei boli”. Planta numită „iarbă de scorbut” și-a obținut numele după ce s-a observat că aceasta vindecă scorbutul. *Panseus* observă efectul benefic al consumului de citrice în ameliorarea acestei boli, iar în 1735, medicul scoțian *James Lind* face unele experimente în acest domeniu. Astăzi, aceste experimente sunt considerate ca fiind prima cercetare științifică în domeniu.

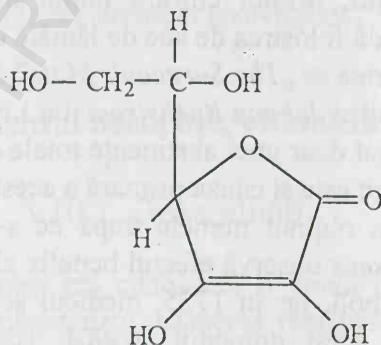
Lind a luat 12 marinari bolnavi de scorbut pe care i-a împărțit în șase grupe a câte doi marinari. Tuturor le-a administrat aceeași dietă alimentară, dar la fiecare a adăugat anumite produse diferite: cidru, acid sulfuric foarte diluat, oțet, decoct din diferite ierburi și condimente, apă de mare și, respectiv, lămâi și portocale. După un timp, Lind a observat doar la marinarii din ultima grupă dispariția simptomelor de boală.

În 1795, Marina Britanică a adoptat lămâile ca element standard pe mare. Căpitanul *James Cook* demonstrase și dovedise principiul avantajelor alimentelor proaspete și conservate, precum varza acră, prin călătoria sa și a echipajului său până în Hawaii și mai departe fără a pierde nici un om din cauza scorbutului. Abia în 1912, *Axel et al.*, demonstrează că scorbutul este o avitaminoză, iar *von Drummond* propune, în 1920, denumirea de *vitamină C* pentru factorul antiscorbutic. În perioada 1928-1932, *Albert Szent-Gyorgy* izolează din suprarenale o substanță pe care o numește acid hexuronic.

După ce demonstrează că acest factor este identic cu vitamina C, autorul introduce și denumirea de acid ascorbic. Numele de „antiscorbutic” era folosit în secolele XVIII și XIX ca termen general pentru acele alimente care preveneau scorbutul, deși nu se înțelegea motivul pentru care erau denumite astfel. *Irwin Stone* a dezvoltat teoria conform căreia vitamina C este un nutrient esențial deficitar la oameni, ca rezultat al unei erori genetice, ceea ce a afectat întreaga rasă umană.

3.10.2. Structura chimică și proprietățile vitaminei C

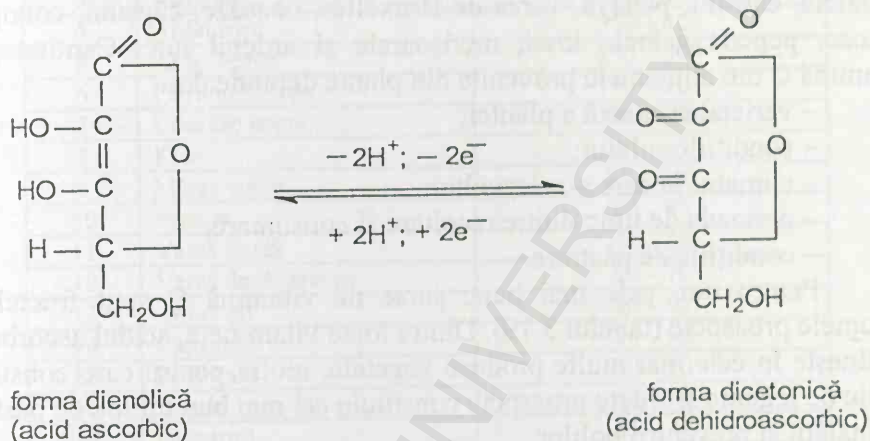
Din punct de vedere structural, vitamina C este 2,3-ceto-L-gulonolactona: (denumire chimică: 2-oxo-L-threo-hexono-1,4-lactonă-2,3-endiol sau (R)-3,4-dihidroxi-5-((S)-1,2-dihidroxietyl)-furan-2(5H)-one):



acid L-ascorbic

Acidul ascorbic pur se prezintă sub forma unor cristale anhidre, incolore, solubile în apă, alcooli și solvenți polari și insolubile în solvenți organici nepolari. Este o substanță optic activă cu p.t. = 192°C și o masă moleculară de 176,12 g/mol.

Proprietățile chimice ale acidului ascorbic sunt determinate, în primul rând, de capacitatea sa reducătoare legată de posibilitatea trecerii reversibile din forma dienolică în cea dicetonică. Același caracter reducător puternic stă și la baza principalei funcții biologice a vitaminei C, cea de protecție antioxidantă:



Caracterul reducător al acidului ascorbic se manifestă și față de AgNO_3 , KMnO_4 , cationii Cu^{2+} , anionii Γ^- , albastru de metilen, 2,6-diclorfenolindofenol etc. Una din metodele de dozare a vitaminei C în diferite surse o constituie titrarea extractelor vitaminice obținute cu 2,6-diclorindofenol.

Cu FeCl_3 și FeSO_4 , acidul ascorbic formează complexe colorați, aceste reacții stând la baza determinărilor calitative ale vitaminei C. În mediu de acid sulfuric concentrat, acidul ascorbic formează cu 2,4-dinitrofenil-hidrazina ozazone colorate în roșu. Și această reacție stă la baza unor metode de dozare a vitaminei C.

Acidul ascorbic este o pudră microcristalină, de culoare albă. El corespunde aditivilor alimentari E 300 și E 301.

Vitamina C este extrem de sensibilă la acțiunea oxigenului din aer, sensibilitate ce crește considerabil o dată cu creșterea temperaturii, în prezența luminii și a unor metale (fier, cupru etc.). Se descompune, de asemenea la pH neutru și alcalin dar este stabilă la pH acid.

Instabilitatea la căldură a acidului ascorbic face ca preparatele pasteurizate să fie mai sărace în această vitamină. De exemplu, prin pasteurizare, laptele pierde cel puțin 20% din conținutul inițial de acid ascorbic.

3.10.3. Stare naturală

Vitamina C este larg răspândită în plante și în unele microorganisme unde este sintetizată din precursori glucidici. Cele mai bogate surse vegetale de vitamină C sunt fructele de măceș, citricele (lămâi, portocal, grapefrut), tomatele, cartofii, papaya, varza de Bruxelles, coacăze, căpșuni, conopidă, spanac, pepene galben, kiwi, merișoarele și ardeiul iute. Cantitatea de vitamină C din alimentele provenite din plante depinde de:

- varietatea exactă a plantei;
- condițiile solului;
- climatul în care s-a dezvoltat;
- perioada de timp dintre recoltare și consumare;
- condițiile de păstrare.

Pentru om, cele mai bune surse de vitamină C sunt fructele și legumele proaspete (tabelul 3.19). Dintre toate vitaminele, acidul ascorbic se întâlnește în cele mai multe produse vegetale, motiv pentru care consumul zilnic de legume și fructe proaspete constituie cel mai bun mijloc de păstrare a sănătății și prevenirii bolilor.

Acest fapt a fost constatat și statistic la popoarele ale căror tradiții și rețete culinare conțin foarte multe legume și fructe proaspete.

Majoritatea animalelor pot sintetiza acidul ascorbic, cu excepția omului, primatelor și cobaiului. Sinteza este realizată printr-o secvență metabolică sub acțiunea unor enzime care convertesc glucoza în acid ascorbic. Acest lucru are loc fie în rinichi, la reptile și păsări, fie în ficat, la mamifere și păsări ciripitoare (*Passeriformes*). Ultima enzimă din proces, *L-gulonolacton-oxidaza*, nu poate fi sintetizată de organismul uman deoarece gena care codifică enzima este inexistentă.

Pierderea unei enzime care este importantă pentru producerea acidului ascorbic a avut loc frecvent pe scara evoluției și a afectat majoritatea peștilor, multe păsări, unii lilieci, porcușorii de Guineea și majoritatea primatelor, inclusiv omul. Mutațiile nu sunt însă letale, deoarece acidul ascorbic se regăsește din abundență în sursele alimentare (multe din speciile enumerate mai sus se hrănesc, în principal, cu fructe).

În anii 1920, s-a constatat că și unele tipuri de carne sunt, de asemenea, o sursă de vitamină C. Mușchiul și grăsimea, care reprezintă baza alimentației occidentale moderne, sunt surse proaste. Ca și în cazul fructelor și legumelor, gătitul micșorează cantitatea de vitamină C conținută. Date fiind cele de mai sus, au fost determinate cantitățile de acid ascorbic și în principalele produse alimentare de origine animală ce intră, de regulă, în dieta omului (tabelul 3.20).

Tabelul 3.19

Conținutul în acid ascorbic (vitamina C) al unor produse alimentare de origine vegetală*

Nr. crt.	Sursa alimentară	mg acid ascorbic / 100 g
1	Fructe de cătină	2500 – 2700
2	Cireșe negre	1700 – 1800
3	Măceșe	1200 – 1300
4	Ardei roșu	350 – 400
5	Ardei verde	250 – 300
6	Pătrunjel verde	170 – 200
7	Coacăze negre	160 – 180
8	Kiwi	100 – 110
9	Mărar verde	95 – 100
10	Papaya	80 – 85
11	Varză crudă	70 – 80
12	Varză de Bruxelles	65 – 70
13	Broccoli	60 – 65
14	Căpșuni	50 – 60
15	Portocale	50 – 60
16	Lămâi	50 – 60
17	Grepfruit	35 – 40
18	Coacăze roșii	35 – 40
19	Zmeură	30 – 35
20	Ridichi	25 – 30
21	Spanac	20 – 25
22	Tomate	20 – 25
23	Afine	20 – 25
24	Pepene galben	20 – 25
25	Dude	15 – 20
26	Caise	10 – 15

* *L'Encyclopédie Médicale*, Paris, 2003.

Tabelul 3.20

Conținutul în vitamină C al alimentelor de origine animală*

Produsul	mg acid ascorbic/100g	Produsul	mg acid ascorbic/100g
Ficat de vită (crud)	31	Limbă de miel	6
Scoici (crude)	30	Lapte de capră	2
Cod (prăjit)	26	Lapte de vacă	2
Ficat de porc (crud)	23	Friptură de vită	1
Ficat de pasăre	13	Ou de găină	1
Ficat de miel	12	Bacon de porc	1
Creier de miel	17	Cotlet de vită	1
Inimă de miel	11	Pulpă de pui	1

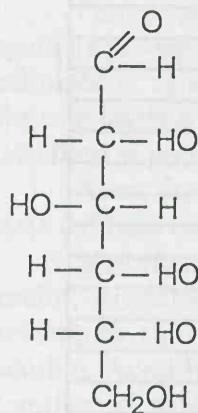
* *Brody*, 1994.

3.10.4. Metabolismul acidului ascorbic

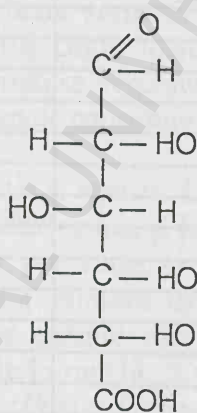
3.10.4.1. Biosinteza și sinteza chimică a vitaminei C

Acidul ascorbic poate fi sintetizat de toate plantele verzi, de unele microorganisme și de către animale, cu excepția cobaiului, primatelor și omului, utilizându-se în calitate de precursor fie glucoza, fie galactoza.

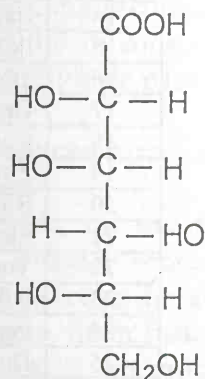
În organismul animalelor ce pot sintetiza acidul ascorbic, acesta joacă mai mult rol hormonal decât vitaminic. La acestea, cea mai mare cantitate de acid ascorbic se sintetizează în suprarenale, iar în cantități mai mici în ficat și rinichi. În procesul biosintetic, glucoza se transformă în acid L-gulonic pe cale glucuronatului:



D-glucoză



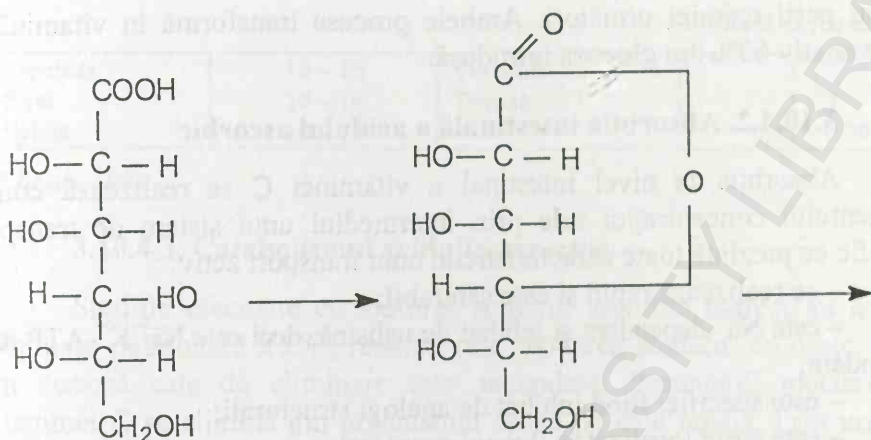
acid D-glucuronic



acid L-gulonic

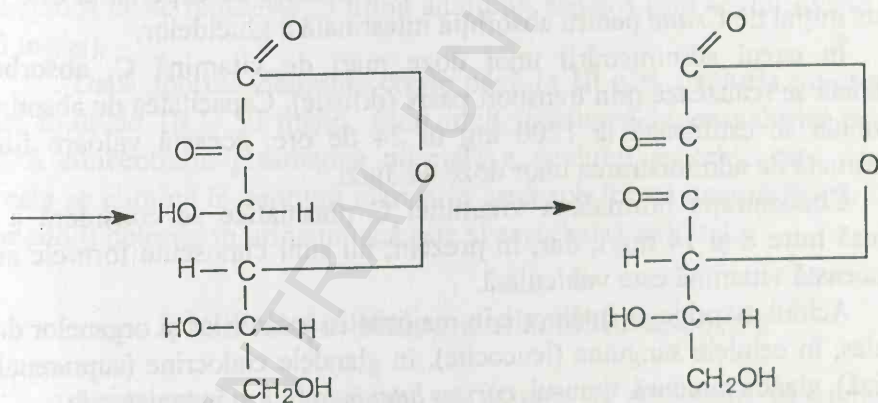
Conversia acidului D-glucuronic în acid L-gulonic este o transformare complexă de reducere a grupării aldehydice în grupare alcoolică primară. La această etapă, are loc inversia moleculei, în sensul că atomul C₁ al acidului glucuronic (ce corespunde atomului C₁ al glucozei) devine atomul C₆ al acidului gulonic, deci și al acidului ascorbic.

În funcție de necesitățile organismului, acidul gulonic astfel format, fie că se transformă în acid 3-ceto-L-gulonic, L-xiluloză etc. și intră în ciclul pentozofosfaților, fie că trece în L-gulonolactonă urmând să formeze acidul ascorbic:



acid L-gulononic

L-gulonolactonă



2-ceto-L-gulonolactonă

acid L-ascorbic

Imposibilitatea organismului uman, al primatelor și al cobaiului de a sintetiza acidul ascorbic este datorată absenței totale a două enzime ce intervin în etapele finale ale procesului biosintetic: *D*-glucuronolacton-reductaza și respectiv *L*-gulonolacton-oxidaza.

În ceea ce privește sinteza chimică, vitamina C este produsă din glucoză prin două metode principale. Procesul Reichstein, dezvoltat în anii 1930, folosește o singură prefermentare, urmată de o cale pur chimică. Procesul de fermentație modern, în doi pași, este originar din China, dezvoltat în anii 1960 și folosește fermentația adițională pentru a înlocui

parțial pașii chimici următori. Ambele procese transformă în vitamină C aproximativ 60% din glucoza introdusă.

3.10.4.2. Absorbția intestinală a acidului ascorbic

Absorbția la nivel intestinal a vitaminei C se realizează contra gradientului concentrației sale prin intermediul unui sistem de transport specific ce prezintă toate caracteristicile unui transport activ:

- se realizează rapid și este saturabil;
- este Na^+ -dependent și inhibat de uabaină, deci este Na^+, K^+ -ATP-ază-dependent;
- este specific, fiind inhibat de analogi structurali;
- este strict localizat în ileonul proximal.

În pofida unor analogii structurale, sistemul de transport al acidului ascorbic diferă de cel al glucozei. Modelul care concordă cel mai mult cu datele experimentale obținute pentru om și animalele de experiență este cel propus inițial de *Crane* pentru absorbția intestinală a glucidelor.

În cazul administrării unor doze mari de vitamină C, absorbția intestinală se realizează prin transport pasiv (difuzie). Capacitatea de absorbție intestinală se estimează la 1200 mg în 24 de ore, această valoare fiind determinată de administrarea unor doze de 3g/zi.

Concentrația normală a vitaminei C plasmatică se consideră a fi cuprinsă între 8 și 14 mg/l, dar, în prezent, nu sunt cunoscute formele sub care această vitamină este vehiculată.

Acidul ascorbic se întâlnește în majoritatea țesuturilor și organelor dar, mai ales, în celulele sanguine (leucocite), în glandele endocrine (suprarenale, hipofiză), glanda pituitară, timusul, *corpus luteum*, retină și în hepatocite.

S-a mai demonstrat că vitamina C traversează bariera placentară. La om, rezervele de acid ascorbic se situează între 20 și 50 mg/kg corp. Conținutul în acid ascorbic al diferitelor organe și țesuturi la omul adult sunt cele redate în tabelul 3.21.

Tabelul 3.21

Conținutul în acid ascorbic al diferitelor organe la adult*

Organul	mg acid ascorbic/100g	Organul	mg acid ascorbic/100g
Hipofiza	40 – 50	Rinichi	5 – 15
Suprarenale	30 – 40	Inimă	5 – 15
Ochi	25 – 31	Plămâni	6 – 7
Creier	13 – 15	Mușchi scheletici	3 – 4

Tabelul 3.21 (continuare)

Pancreas	10 – 15	Testicule	2 – 3
Ficat	10 – 16	Tiroidă	2 – 3
Splină	10 – 15		0,07 – 0,09

* Brody, 1994.

3.10.4.3. Catabolismul acidului ascorbic

Studiile efectuate cu ajutorul acidului ascorbic marcat au arătat o eliminare pulmonară a CO₂ rezultat prin oxidarea acidului ascorbic, dar la om această cale de eliminare este secundară. Principalii metaboliți ai vitaminei C se elimină din organismul uman pe cale renală. Prin urină, se elimină atât acidul ascorbic nemodificat, cât și acidul L-dehidroascorbic, acidul 2,3-dioxo-L-gulonic și acidul oxalic, în proporții variabile. La un aport zilnic fiziologic normal de vitamină C (60 – 100 mg), principalul metabolit ce se regăsește în urina adultului sănătos este acidul oxalic (30 – 50 mg/zi).

Dacă aportul vitaminic crește până la 10 g/zi, oxaluria nu crește cu mai mult de 10 – 30 mg/zi, fiind mult inferioară hiperoxaluriei primare. Dacă concentrația plasmatică normală a acidului ascorbic este depășită, acesta se elimină în cantități mari prin urină sub formă nemodificată. Un alt metabolit detectat în urina umană este și ascorbat-2-sulfatul.

3.10.5. Rolul biologic al acidului ascorbic

Acidul ascorbic joacă un rol extrem de important în numeroase reacții de oxidare datorită proprietăților sale reducătoare (Liao and Seib, 1987). Aceste caracteristici, precum și capacitatea sa de a reacționa cu radicalii oxigenați liberi, determină rolul biologic principal al vitaminei C – cel de protecție antioxidantă. Cu toate acestea, acidul ascorbic mai este implicat în numeroase alte procese biochimice (Davies et al., 1991; Huang, 2001).

Acidul ascorbic este oxidat foarte ușor și, de aceea, este folosit ca reducător în soluțiile de dezvoltare fotografică și drept conservant.

Acidul ascorbic și sărurile sale de sodiu, potasiu și calciu sunt des folosiți ca aditivi alimentari antioxidanți. Acești compuși sunt solubili în apă și, deci, nu pot proteja grăsimile de oxidare: pentru acestea, esterii liposolubili ai acidului ascorbic cu catenă lungă de acizi grași (ascorbil-palmitat sau ascorbil-stearat) pot fi folosiți drept antioxidanți (Borenstein, 1987).

3.10.5.1. Transportul protonilor și electronilor

Datorită capacității crescute a acidului ascorbic de a trece reversibil din forma dienolică în forma dicetonică, mulți autori consideră că vitamina C poate juca un rol important în sisteme de transport ale protonilor și electronilor (fig. 3.28).

3.10.5.2. Biosinteza collagenului

Procesul de conversie a precolagenului în collagen necesită hidroxilarea resturilor de prolină și lizină. Acidul ascorbic joacă un rol specific în aceste reacții de hidroxilare ce nu pot fi realizate de alți agenți reducători.

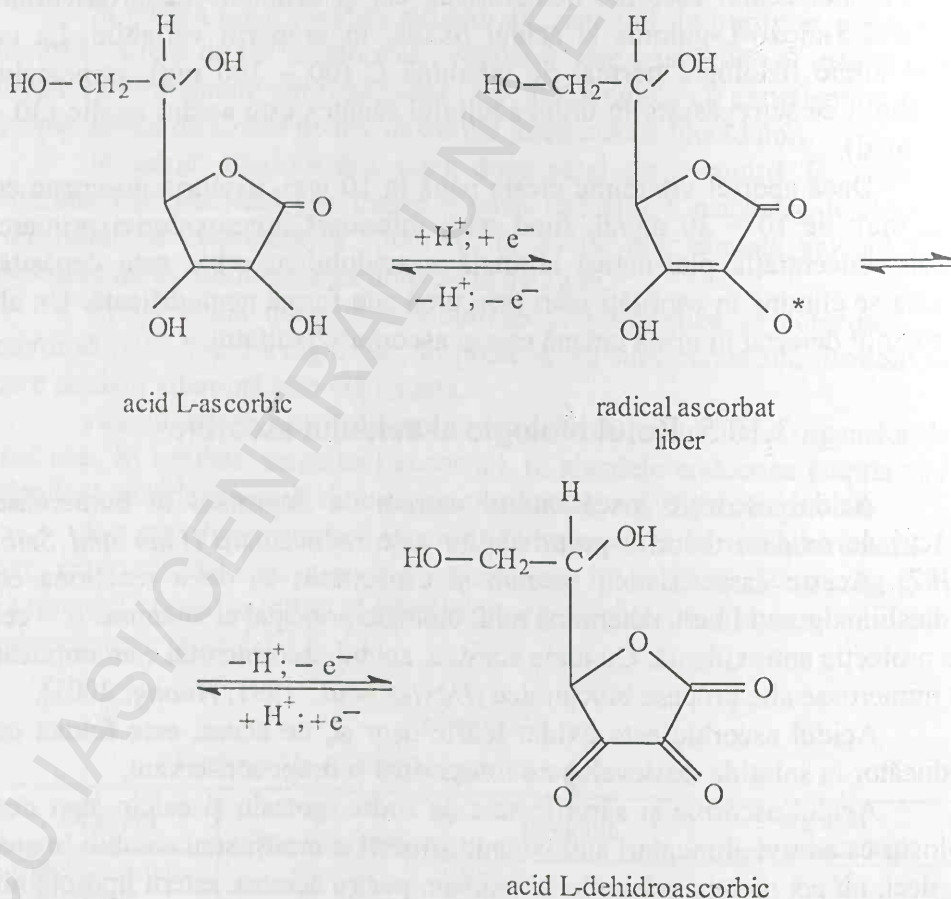


Figura 3.28. Rolul acidului ascorbic în sistemele de transport al protonilor și electronilor.

Aceste reacții sunt catalizate de *lizin-hidroxilază* și, respectiv, *prolin-hidroxilază*, în prezența oxigenului, fierului bivalent și α -cetoglutaratului. Acidul ascorbic joacă un rol de protecție față de aceste enzime, împiedicând oxidarea grupelor tiolice din apoenzime.

Dacă, la acest nivel, apare o anomalie a biosintezei collagenului, aceasta este responsabilă de unul din principale simptome ale scorbutului – tuberculozarea țesutului conjunctiv. Dacă collagenul se formează în absența acidului ascorbic, fibrilele sale sunt mai puțin numeroase și purtătoare de anomalii structurale.

Acidul ascorbic mai este implicat în sinteza diferitelor structuri microsomale și polisomale.

3.10.5.3. Participarea acidului ascorbic la alte reacții de hidroxilare

În etapele inițiale ale metabolismului steroizilor, lipidelor și unor medicamente, acidul ascorbic este implicat în acțiunea unor *hidroxilaze* specifice. Astfel, *hidroxilazele* citocrom P_{450} -dependente din microsomi, în prezența acidului ascorbic, catalizează transformarea colesterolului în acizi biliari, precum și hidroxilarea sau demetilarea substanțelor aromatice și a altor xenobiotice cum ar fi poluanții cancerigeni și pesticidele.

Procesul de biosinteză a corticosteroizilor cuprinde și o etapă de hidroxilare la nivel mitocondrial și microsomal. Această transformare este mult încetinită în hipovitaminoza C, dar se restabilește rapid prin administrare de acid ascorbic.

3.10.5.4. Participarea acidului ascorbic la biosinteza carnitinei

Carnitina este coenzima *carnitin-aciltransferazei*, enzimă implicată în transportul acizilor grași în mitocondrii unde vor fi oxidați. Energia necesară unui efort muscular prelungit depinde de această cale oxidativă. Din această cauză, concentrația carnitinei în mușchi este crescută. Biosinteza carnitinei se realizează în țesutul hepatic, utilizându-se lizina în calitate de precursor. Calea biosintetică cuprinde și două hidroxilări ce necesită fier feros și acid ascorbic.

Carența în acid ascorbic conduce la o diminuare marcată a activității hidroxilazelor specifice și, implicit, a concentrației carnitinei musculare. În experimente pe animale de laborator, s-a demonstrat că reducerea acidului ascorbic hepatic de la 30 la 5 mg/100 g țesut determină o scădere a carnitinei musculare de la $1,15 \pm 0,1 \mu\text{g/g}$ (valoare fiziologic normală) la $0,5 \pm 0,1 \mu\text{g/g}$ în decurs de trei săptămâni. De aceea, mulți autori consideră

În același timp, tirozina poate fi degradată până la acid homogentizinic care se elimină pe cale renală, ultima etapă a acestei secvențe metabolice fiind catalizată de o *oxidază* specifică ascorbat-dependentă.

3.10.5.6. Rolul vitaminei C în metabolismul mineral

Datorită proprietăților sale reducătoare, precum și capacității de a forma chelați, acidul ascorbic manifestă o acțiune importantă asupra ionilor metalici la nivelul absorbției lor intestinale, circulației și distribuției lor la nivel tisular.

S-a demonstrat astfel că acidul ascorbic favorizează absorbția fierului la nivel intestinal și influențează repartiția sa în organism. De aceea, un deficit alimentar de ascorbat mobilizează rezervele de fier din splină și din sistemul reticuloendotelial, dar nu și rezervele hepatice. Această relație de reciprocitate se manifestă și invers, în sensul că administrarea unor doze mari de fier metabolizabil determină o creștere a concentrației sanguine a acidului ascorbic.

Pentru organismul uman, a fost demonstrată existența unei corelații inverse între rezervele de fier și cele de acid ascorbic în celulele sanguine. Unele hemosideroze sunt asociate cu accelerarea turnover-ului ascorbatului și apariția unor simptome clinice ale carenței de vitamină C. În fine, o asociere a acidului ascorbic în tratamentele cu fier metabolizabil determină o accelerare a metabolizării fierului.

3.10.5.7. Rolul vitaminei C în răspunsul endocrin și alergic

S-a observat că acidul ascorbic joacă un rol important în metabolismul histaminei. În timpul perioadei de debut a scorbutului, se observă o scădere bruscă a concentrației plasmatică a acidului ascorbic asociată cu o creștere a nivelului histaminic și a eliminării ei renale, ca în alergii. Aceste modificări au fost inițial atribuite unor dereglări ale procesului biosintetic. Studii ulterioare au arătat că acidul ascorbic, în prezența cuprului, împiedică acumularea de histamină, contribuind la degradarea și eliminarea sa.

Acidul ascorbic mai poate acționa și ca modulator în biosinteza prostaglandinelor, mai exact favorizează biosinteza PgE în detrimentul PgF, acestea din urmă având rol în sensibilitatea histaminică. Funcția histaminică mai poate fi controlată prin inhibiția metabolismului nucleotidelor ciclice la nivelul *fosfodiesterazelor*. Acidul ascorbic din celulele suprarenalelor s-a dovedit a fi un modulator al secreției hormonilor acestei glande la cobai în situații de stres.

3.10.5.8. Interacțiunea acidului ascorbic cu radicalii liberi

Una din funcțiile biologice extrem de importante ale acidului ascorbic o constituie capacitatea acestuia de a distruge radicalii liberi oxigenați de tipul radicalilor hidroxil, de oxigen sau a radicalilor superoxid. Reacțiile prin care se elimină radicalii liberi oxigenați sunt foarte importante mai ales la nivel ocular și la nivelul lichidului interstițial pulmonar unde este asigurată o protecție față de alți agenți oxidanți de tipul ozonului.

Diferitele perturbări oxidative, cum ar fi apariția derivaților peroxidici ai lipidelor, a peroxidului de hidrogen, alterarea structurii ADN și mutageneza etc., au fost atribuite inițial vitaminei C și ionilor metalici. Aceste perturbări au dispărut după înlăturarea ionilor din mediul în care s-a experimentat *in vitro*.

In vivo, aceste procese distructive sunt inhibitate de către unele enzime specifice de protecție – *superoxid-dismutaza*, *catalaza* și *glutathion-reductaza* – precum și de către vitamina E. La subiecții în vârstă, rolul acidului ascorbic poate fi atribuit capacității sale de a controla radicalii liberi prin intermediul radicalului ascorbat.

3.10.5.9. Rolul acidului ascorbic în funcțiile imunologice și antibacteriene

Vitamina C este implicată în funcțiile imunologice și antibacteriene ale leucocitelor prin creșterea mobilității lor, stimularea șuntului hexozomonofosfaților producător de energie celulară și prin protejarea membranei leucocitare față de agenții oxidanți. Acidul ascorbic mai joacă un rol important și în procesul de biosinteză a interferonului.

Concluzionând asupra celor de mai sus, se poate spune că proprietățile de protecție antioxidantă ale acidului ascorbic determină o multitudine de funcții biochimice și fiziologice ale acestei vitamine:

- vitamina C blochează generarea de radicali liberi, protejând astfel acizii grași nesaturați din membranele celulare și citosol, precum și tocoferolii care au, de asemenea, o acțiune de protecție antioxidantă;
- acidul ascorbic stimulează biosinteza collagenului, contribuind astfel la menținerea rezistenței și sănătății țesuturilor ce conțin această proteină structurală (piele, cartilaje, ligamente, vase sanguine, dinți, oase etc.);
- vitamina C participă la biosinteza unor neurotransmițători (cum ar fi noradrenalina) implicată în concentrarea atenției, diminuarea situațiilor de stres etc.;

- un rol major al acidului ascorbic îl constituie cel de protecție anti-infecțioasă. Concentrația sa în globulele albe este de 40 – 60 de ori mai mare decât în plasmă, aceste rezerve fiind însă imediat consumate în infecții, șoc traumatic, cancer, diabet, corticoterapie, sarcină și altele;
- acidul ascorbic reduce considerabil reacțiile alergice diminuând drastic nivelul histaminei în sânge;
- vitamina C reduce toxicitatea unor ioni metalici cum ar fi plumbul, nichelul, cadmiul etc., facilitând eliminarea acestora din organism;
- favorizează absorbția fierului și repartiția sa în organism dar, în exces, inhibă absorbția cuprului;
- acidul ascorbic este implicat în conversia colesterolului în acizi biliari, principala cale metabolică prin care organismul „scapă” de excesul de colesterol. Mecanismul prin care vitamina C acționează în această direcție nu este pe deplin elucidat. Însă, se cunoaște că există o relație directă între nivelul de acid ascorbic din ficat și viteza cu care acest organ transformă colesterolul în acizi biliari;
- vitamina C este implicată în degradarea unor substanțe toxice (unii poluanți, medicamente etc.), favorizând eliminarea produșilor de degradare pe cale renală;
- crește potențialul de acțiune al acidului folic;
- menține integritatea structurală a glutatationului, principalul factor de protecție a organismului față de mulți poluanți;
- acidul ascorbic favorizează sinteza hepatică a carnitinei, metabolit implicat în degradarea acizilor grași cu formarea energiei necesare contracției musculare;
- vitamina C accelerează biosinteza catecolaminelor de către suprarrenală, hormoni ce joacă un rol fiziologic important în caz de stres, revigorarea organismului și învingerea oboselei.

3.10.6. Necesarul de vitamină C

Este cunoscut faptul că nici un organ nu face rezerve de ascorbat ca funcție principală a sa, așa că organismul rămâne foarte repede fără această substanță dacă nu există un aport continuu care să fie absorbit la nivel intestinal. Deși funcțiile biologice ale acidului ascorbic sunt destul de bine studiate și cunoscute, necesitățile zilnice de vitamină C ale omului nu sunt stabilite cu exactitate, literatura de specialitate raportând valori relativ diferite. Se recomandă, totuși, ca aporturile nutriționale de vitamină C să fie cuprinse între 35 până la 65 mg/zi pentru un copil, în timp ce la omul adult,

necesarul de acid ascorbic se ridică la 75 – 80 mg/zi, deci este vorba de un necesar relativ ridicat comparativ cu celelalte vitamine.

În timpul sarcinii, acesta poate crește până la 100 mg/zi, iar în perioada de lactație până la 120 mg/zi. Pentru fumători, se recomandă un aport chiar ceva mai crescut, de ordinul a 120 – 130 mg/zi. Date recente din literatura de specialitate sistematizează necesarul zilnic de acid ascorbic în funcție de vârstă, sex și stare fiziologică (tabelul 3.22).

Tabelul 3.22

Doza zilnică recomandată de vitamină C în funcție de vârstă și sex*

Subiecți	Vârsta	Fete/Femei (mg/24 ore)	Băieți/Bărbați (mg/24 ore)
Nou-născuți	0–6 luni	40	40
Copii	7–12 luni	50	50
Copii	1–3 ani	15	15
Copii	4–8 ani	25	25
Adolescenți	9–13 ani	45	45
Adolescenți	14–18 ani	65	75
Adulți	Peste 19 ani	75	90
Fumători	Peste 19 ani	110	125
Femei însărcinate	Sub 18 ani	80	—
Femei însărcinate	Peste 19 ani	85	—
Femei care alăptează	Sub 18 ani	115	—
Femei care alăptează	Peste 19 ani	120	—

* OMS, 2003.

3.10.7. Tulburări de aport vitaminic

Lipsa acidului ascorbic din alimente sau unele tulburări la nivelul tractului gastro-intestinal care diminuează absorbția vitaminei conduc la instalarea stării de avitaminoză C și la boala carențială numită scorbut (*Cathcart*, 1981). În realitate, scorbutul poate fi considerat ca fiind o polia-vitaminoză deoarece acidul ascorbic nu este singurul factor a cărui insuficiență determină apariția sa.

Scorbutul poate duce la formarea de pete livide pe piele, gingii moi și sângerări ale aproximativ tuturor membranelor mucoase. Petele sunt mai

abundente pe coapse și picioare, iar o persoană cu această afecțiune este palidă, depresivă și este parțial imobilă. Apariția scorbutului este precedată de hipovitaminoză ce se manifestă prin astenie, inapetență, scăderea rezistenței organismului la efort și la infecții, dureri la nivelul articulațiilor și al pulpelor (așa-numitul „reumatism scorbutic”), paloarea și uscăciunea tegumentelor, tahicardie și dispnee.

Agravarea stării carentiale conduce la apariția de hemoragii punctiforme subcutanate, musculare, gingivale (gingii scorbutice) și periostale. Pot să apară, de asemenea, echimoze spontane sau provocate de traumatisme foarte mici și inflamări ale limbii, afecțiune care se numește limbă scorbutică.

În avitaminoza avansată survin febra, cangrenele, hemoragii viscerale, necroze osoase etc. Deseori, moartea poate fi provocată de unele complicații pulmonare ca pleureziile, pneumoniile, tuberculoza. La copii, scorbutul determină, în primul rând, încetinirea sau oprirea totală a creșterii, această afecțiune fiind numită uneori „boala lui Barlow”, după numele unui fizician britanic (*Thomas Barlow*) care a descris-o prima dată. De asemenea, scorbutul mai este cunoscut și ca „boala lui Moeller” sau „boala lui Cheadle”. Sunt necesare circa trei luni de deficiență de vitamina C pentru ca simptomele scorbutului să se manifeste. Scorbutul netratat este întotdeauna fatal, dar, fiindcă tot ce trebuie pentru o recuperare completă este reluarea dozelor normale de vitamină C, moartea din cauza scorbutului este rară în zilele moderne.

Simptomatologia clinică a scorbutului este însoțită de o scădere drastică a concentrației plasmatice a acidului ascorbic. Astfel, la apariția primelor simptome clinice ale scorbutului, vitamina C plasmatică are o concentrație cuprinsă între 1,3 – 2,5 mg/l comparativ cu 8 – 14 mg/l care este concentrația normală.

Concentrația leucocitară a acidului ascorbic scade mai lent comparativ cu cea plasmatică. Administrarea de vitamină C este prescrisă pe cale orală în tratamentul carențelor corespunzătoare, al stărilor de oboseală, al unor tulburări capilare și venoase, iar pe cale intravenoasă în caz de methe-moglobinemie (creștere anormală a concentrației sanguine de methemoglo-bină, moleculă incapabilă să transporte oxigenul). În schimb, contrar unor idei răspândite, vitamina C nu are nici o influență directă asupra virusului gripal, acțiunea sa profilactică asupra gripei, răcelii comune și a oricăror infecții în general fiind nespecifică, explicată prin stimularea proceselor anabolice.

Ingerarea excesivă de vitamina C (prin suplimentare medicamentoasă) poate antrena agitație și insomnii, dar ea nu este periculoasă, excesul fiind

eliminat prin urină și fecale. Pentru doze egale sau mai mici de 1000 mg/zi nu există nici un fel de contraindicații. Doze mai mari nu trebuie administrate în caz de hemocromatoză (boală consecutivă acumulării de fier în țesuturile organismului), de litiază renală oxalică, de deficit în *glucozo-6-fosfat dehidrogenază* sau de insuficiență renală.

3.10.8. Utilizarea acidului ascorbic în scop terapeutic

a. Cicatrizarea rănilor și plăgilor postoperatorii

Prin intervenția sa în procesul de biosinteză a colagenului, vitamina C contribuie la cicatrizarea plăgilor rezultate în urma unor traumatisme sau intervenții chirurgicale.

Observația că rezervele de acid ascorbic leucocitar scad brusc la persoanele operate sugerează un necesar crescut al acestei vitamine la pacienții operați. Numeroase studii au arătat eficiența acidului ascorbic în cicatrizarea rapidă a rănilor.

b. Stimularea sistemului imunitar

Rolul de stimulare a sistemului imunitar de către acidul ascorbic justifică utilizarea acestei vitamine în tratamentul și prevenirea infecțiilor. Vitamina C amplifică mobilitatea leucocitelor, inhibă autooxidarea lor și crește concomitent nivelul imunoglobulinelor serice și formarea anticorpilor, mediind, se pare, și efectul anti-HIV prin diminuarea sintezei de proteine virale în celulele infectate (*Harakeh et al.*, 1990; *Harakeh and Jriwalla*, 1991; 1997). Vitamina C mai este, în același timp, un protector al organismului față de șocurile anafilactice.

c. Vitamina C și cancerul

Conform unor date experimentale încă neverificate, s-ar părea că vitamina C ar avea capacitatea de a reduce dezvoltarea unor celule tumorale la om, putând juca un rol preventiv esențial prin stoparea transformării unor substanțe în produși cancerigeni.

d. Utilizarea vitaminei C în boli cardiovasculare

Rolul acidului ascorbic în prevenirea aterosclerozei prin implicarea în metabolismul lipidic rămâne la stadiul de ipoteză datorită dificultăților unor experimente de lungă durată asupra unui număr de subiecți suficient de mare din punct de vedere statistic.

e. Vitamina C în alcoolism

Numeroase studii privind rezervele de acid ascorbic ale organismului la persoane ce consumă excesiv băuturi alcoolice au arătat, fără dubiu, o carență vitaminică. Diminuarea nivelului plasmatic și leucocitar al vitaminei C a fost observată la acești subiecți, fără însă a se putea afirma dacă hipovitaminoza este datorată malnutriției des întâlnită la alcoolici sau unor modificări în absorbția și metabolismul acidului ascorbic. Este posibilă existența unei concordanțe între gradul de saturare a organismului în vitamină C și metabolismul alcoolului la etilici.

f. Vitamina C în tabagism

Și la fumători s-a constatat un nivel scăzut al acidului ascorbic plasmatic. Numeroase studii explică această scădere prin intensificarea catabolismului acidului ascorbic și nu prin diminuarea absorbției intestinale și a excreției urinare a acestei vitamine.

g) Vitamina C și stresul

A fost identificat un necesar suplimentar de acid ascorbic exogen în situații de stres. S-a mai constatat că un aport zilnic de 1 g vitamină C este util în timpul eforturilor intelectuale intense.

3.10.9. Grupe de risc

Există anumite categorii de populație la care este nevoie de o suplimentare a cantității de vitamină C față de restul populației:

- persoane în vârstă;
- fumători și alcoolici cronici;
- femei care alăptează;
- femei care utilizează anticoncepționale orale;
- astmatici;
- diabetici;
- bolnavi de cancer;
- subiecți cu boli gastrointestinale;
- sportivi de performanță și persoane ce efectuează munci fizice intense;
- persoane sensibile la infecții.

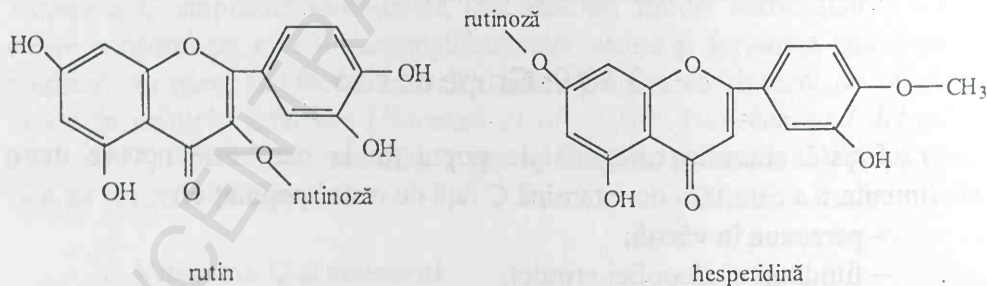
3.11. Vitamina P (bioflavonoidele, vitamina permeabilității)

3.11.1. Generalități

În 1936, *Szent-Gyorgy* constată faptul că, în produsele naturale, acidul ascorbic este deseori asociat cu o substanță care îi amplifică activitatea antiscorbutică. Prin cercetări ulterioare s-a demonstrat că această substanță are proprietatea de a mări permeabilitatea capilară, motiv pentru care a primit numele de vitamina P sau vitamina permeabilității. Cercetările efectuate în vederea stabilirii structurii chimice a vitaminei P au arătat că, de fapt, activitatea vitaminică P este caracteristică unui grup de substanțe cu structură glicozidică.

3.11.2. Structura chimică și proprietățile vitaminei P

Substanțele reunite sub denumirea generică de vitamină P au structură de glicozide flavonice ce conțin în calitate de agliconi unii derivați flavonici (ca în apigenină), flavonolici (quercetina), flavononici (ca în hesperidină și în eriodictiol) etc. Flavonoidele cele mai răspândite în natură sunt rutinul și hesperidina:



Flavonoidele sunt foarte răspândite în plante, mai ales în flori și fructe. Vitamina P poate fi extrasă și purificată din florile, frunzele și fructele unor plante.

3.11.3. Rolul biologic al vitaminei P

La plante, flavonoidele sunt implicate în pigmentarea florii și a fructelor (antocianide, flavonoli, flavone și altele), precum și în unele procese redox la nivelul celulei vegetale. Pentru organismul uman și

animal, principala funcție biologică a vitaminei P constă în acțiunea acesteia asupra peretelui vascular constând într-o creștere a rezistenței capilarelor. În felul acesta este influențată și permeabilitatea capilară precum și presiunea sanguină. În doze mari, flavonoidele manifestă atât acțiune diuretică cât și antibacteriană și antivirală.

Vitamina P influențează în mod direct activitatea unor enzime. S-a pus în evidență astfel efectul inhibitor al flavonoidelor asupra *tirozin-decarboxilazei*, *xantinoxidazei*, *succinioxidazei*, *glucozo-6-fosfatazei* etc. S-a mai demonstrat o anumită acțiune a vitaminei P asupra unor glande endocrine cum ar fi tiroida, gonadele, suprarenalele etc.

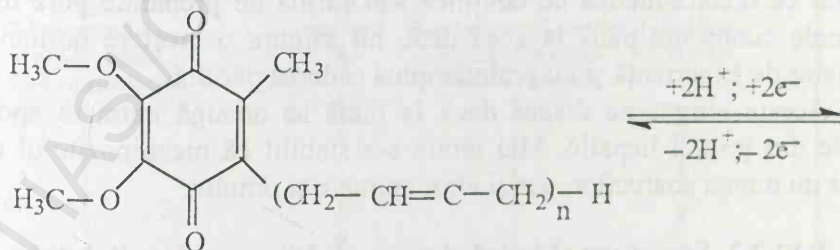
Unele izoflavone au o activitate estrogenă apreciabilă datorită, probabil, unor anumite analogii structurale. În practica medicală vitamina P se utilizează în tratamentul stărilor patologice însoțite de permeabilitate capilară crescută și scăderea rezistenței capilarelor pe care le normalizează.

De asemenea, se recomandă și în hemoragii la nivelul unor anumite organe (plămâni, stomac, esofag), în colitele ulcerose, în diatezele hemoragice ale noului născut, în urticarii cronice, psoriazis etc. Vitamina P a mai fost experimentată și în profilaxia și tratamentul aterosclerozei.

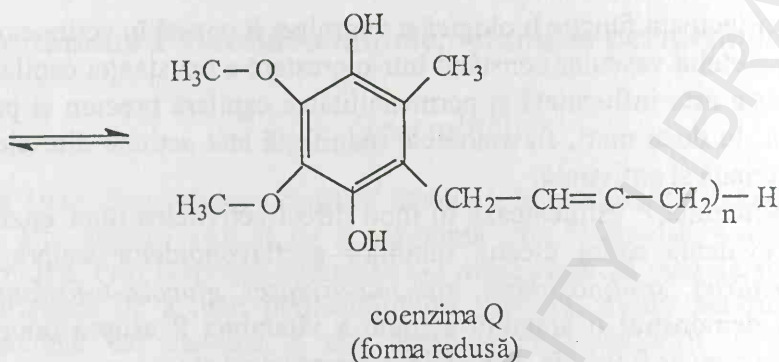
3.12. Alte substanțe cu acțiune vitaminică

3.12.1. Ubichinona (Coenzima Q)

Deși este considerată o vitamină tipică, ubichinona participă în procesele de oxido-reducere celulară, unde îndeplinește un rol asemănător cu cel al coenzimelor flavinice și piridinice:



coenzima Q
(forma oxidată)



În prezent, se cunosc mai multe ubichinone care diferă între ele prin mărimea catenei laterale izoprenoidice. Proprietățile oxido-reducătoare ale ubichinonei fac posibilă participarea ei în catena respiratorie.

Procesul de biosinteză a ubichinonelor este un proces complex în care se utilizează în calitate de precursori acidul chorismic, intermediar în metabolismul aminoacizilor aromatici și respectiv all-*trans*-hexaprenil-difosfatul. În același timp, biosinteza ubichinonelor este cuplată cu procesele de biosinteză ale altor chinone importante cum ar fi menachinona, filochinona etc. (fig. 3.29).

3.12.2. Mezoinozitolul

3.12.2.1. Generalități

Mezoinozitolul, inozitolul sau inozita au fost izolate prima dată din mazăre și straturile aleuronice ale semințelor de graminee. Mai târziu a fost separată din ceai o fracție biologic activă care a primit numele **BIOS I** și s-a constatat că dieta sintetică ce conținea sub formă de preparate pure toate vitaminele cunoscute până la acea dată, nu asigura o creștere normală a animalelor de experiență și nu preîntâmpina căderea părului.

Aceste simptome dispar dacă la dietă se adaugă extracte apoase obținute din țesutul hepatic. Mai târziu s-a stabilit că mezoinozitolul este necesar nu numai șoarecilor, dar și altor animale și omului.

3.12.2.2. Structura chimică și proprietățile mezoinozitolului

Inozitolul este un polialcool derivat al ciclohexanolului ce prezintă izomerie optică. Izomerul dextrogir a fost obținut prin hidroliza cu HI a esterului metilic al D-inozitolului izolat din suc de pin.

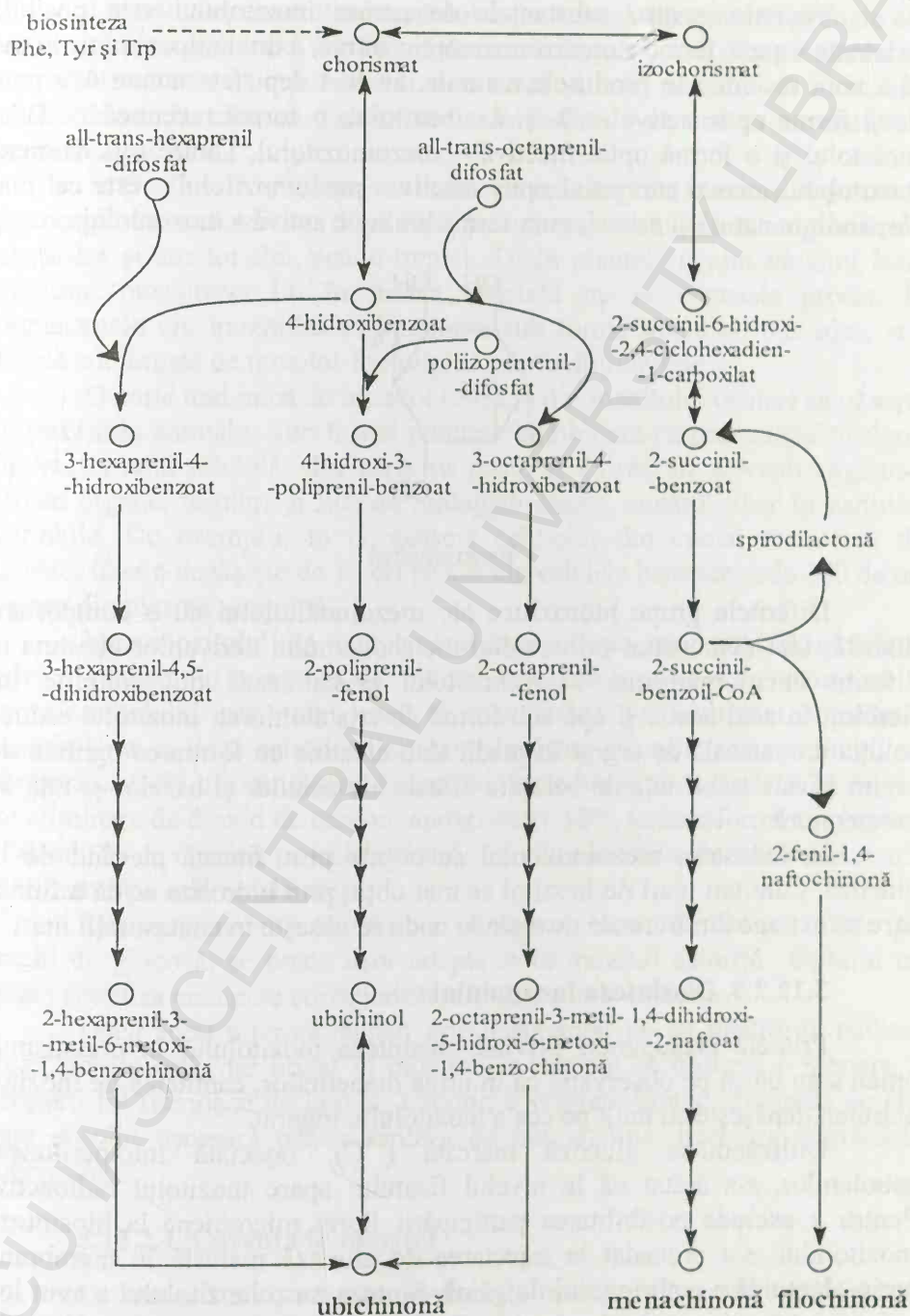
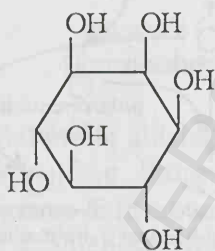


Figura 3.29. Reprezentarea schematică a procesului de biosinteză a ubiquinonei.

Teoretic, pentru substanțele de natura inozitolului este posibilă existența a șapte forme stereoizomere optic active, a doi antipozi optic activi și a unui racemic. În produsele naturale, au fost depistate numai 4 forme: două forme optic active – D- și L- inozitolul, o formă racemică – D,L- inozitolul și o formă optic inactivă – mezoinozitolul. Dintre toți izomerii inozitolului, numai compusul optic inactiv – mezoinozitolul – este cel mai răspândit în natură și este singura formă biologic activă a inozitolului:



mezoinozitol

Diferitele grupe hidroxilice ale mezoinozitolului au o comportare diferită, fapt demonstrat prin studiul metabolismului derivaților acestuia la diferite microorganisme. Mezoinozitolul cristalizează din soluțiile lui fierbinți în acid acetic și apă sub formă de cristalohidrat. Inozitolul reduce soluția amoniacală de argint în medii slab alcaline cu formarea oglinzii de argint și este stabil față de soluțiile diluate ale acizilor și bazelor și față de temperatură.

În industrie, mezoinozitolul se obține prin sinteză plecând de la glucoză. Cantități mari de inozitol se mai obțin prin hidroliza acidă a fitinei care se extrage din frunzele de arahide unde se găsește în concentrații mari.

3.12.2.3. Biosinteza inozitolului

Primele presupuneri privind biosinteza inozitolului în organismul uman s-au bazat pe observația că în urina diabeticilor, cantitatea de inozitol eliminat depășește cu mult pe cea a inozitolului ingerat.

Utilizându-se glucoză marcată (^{14}C), injectată intraperitoneal șobolanilor, s-a arătat că la nivelul ficatului apare inozitolul radioactiv. Pentru a exclude posibilitatea participării florei microbiene la biosinteza inozitolului, s-a procedat la injectarea de glucoză marcată în membrana corio-alantoidă a embrionului de găină. Sinteza mezoinozitolului a avut loc și în acest caz, ceea ce demonstrează că acest proces este independent de flora bacteriană.

La animale, absorbția inozitolului din tractul intestinal în primele ore este lentă și se realizează sub formă de inozitol-monofosfat. Există dovezi că majoritatea bacteriilor pot sintetiza inozitol și este probabil că și bacilul tuberculozei, la care au fost identificate fosfatide ce conțin inozitol, are această capacitate.

În fructe și în semințe, cantitatea de inozitol este maximă în perioada premergătoare coacerii lor, după care, pe măsura acumulării monoglucidelor, uleiurilor și amidonului, scade treptat. Toate plantele conțin inozitol însă, procesul biosintezei lui în lumea vegetală nu se cunoaște precis. În organisme vii, inozitolul se întâlnește sub formă liberă și, mai ales, sub formă combinată de inozitol-fosfolipide sau fosfoinozitide.

O parte mai mică de inozitol (7–31% din inozitolul tisular) se găsește în țesuturile animale. Sub formă puternic combinată cu particulele tisulare, în fracția acid-solubilă, din care nu poate fi extras cu solvenți organici. Unele organe, țesuturi și lichide biologice conțin inozitol liber în cantități variabile. De exemplu, în citoplasma celulelor din creier, cantitatea de inozitol liber o depășește de 10 ori pe cea din celulele hepatice și de 100 de ori pe cea din plasma sanguină.

Mezoinozitolul din ficat, a cărui concentrație este variabilă, se reface relativ repede, în timp ce la nivelul creierului, viteza de reînnoire a mezoinozitolului este mai mică și concentrația lui mult mai constantă. Administrat în doze relativ mici, care depășesc 5 mg/kg corp animal, se observă că 20% din cantitatea de inozitol introdus este oxidată în 24 de ore cu eliminare de dioxid de carbon, aproximativ 10% se transformă în glucoză și doar 5% se elimină pe cale urinară. La administrarea de doze mai mari, eliminarea pe cale renală crește.

Microorganismul *Aerobacter aerogenes* care, de obicei, crește pe medii cu glucoză, se poate ușor adapta și la inozitol datorită faptului că poate sintetiza enzimele corespunzătoare degradării acestuia.

Dacă acest microorganism este înșămânțat pe un mediu de cultură lipsit de glucoză, dar bogat în inozitol, la început se observă o stopare a creșterii lui (perioadă de lag) și, ulterior, o creștere rapidă. Perioada de lag este absolut necesară pentru sinteza de noi enzime, necesare degradării inozitolului.

3.12.2.4. Carența în inozitol

La șoarecii albi, aceasta conduce la apariția alopeciei caracterizată prin căderea simetrică și bilaterală a părului, urmată de apariția dermatitelor în jurul ochilor și de pierderea în greutate. S-a constatat că în absența

inozitolului excesul de biotină exogenă provoacă o infiltrare grasă a ficatului pe care numai aportul de inozitol o poate suprima, având deci o acțiune lipotropă.

Adiția inozitolului în dieta care conține toți factorii alimentației necesari condiționează o scădere a grăsimilor din țesutul hepatic. Unii autori consideră că alopecia apare și în prezența inozitolului, când din dietă lipsește acidul pantotenic și biotina.

La om nu se cunoaște nimic precis despre necesitatea în inozitol, deoarece până în prezent nu au putut fi corelate diferitele simptome cu carența inozitolului.

Aportul inozitolului este în directă dependență de natura alimentației și se consideră că inozitolul ar preveni la om o infiltrație grasă a ficatului, provocată de aportul excesiv de colesterol alimentar. La animalele superioare, depunerea inozitolului în țesuturi sub formă combinată este, probabil, necesară pentru îndeplinirea diferitelor funcții fiziologice.

3.12.3. Colina

3.12.3.1. Generalități

A fost descoperită în 1824 când s-a observat că pancreatectomia efectuată la câini determină o infiltrație grasă acută a țesutului hepatic, care nu poate fi prevenită prin administrare de insulină. Concomitent, se observa faptul că, nivelul concentrației acizilor grași în sânge crește de 10 – 15 ori în comparație cu cantitatea lor normală.

Aceste repercusiuni puteau fi remediate dacă animalele erau hrănite cu pancreas crud sau cu gălbenuș de ou. Analiza compoziției chimice a gălbenușului de ou și a efectului curativ al acestuia a arătat că acțiunea lui se datorează colinei prezente în structura lecitinei.

Deși includerea colinei în clasa vitaminelor este discutabilă deoarece majoritatea organismelor animale o pot sintetiza, după aproximativ 100 de ani de la descoperirea ei s-a ajuns la concluzia că ea constituie un principiu alimentar absolut indispensabil pentru dezvoltarea normală a organismului animal ceea ce a determinat încadrarea ei în grupa vitaminelor, fiind denumită, până nu demult vitamina B₁₅.

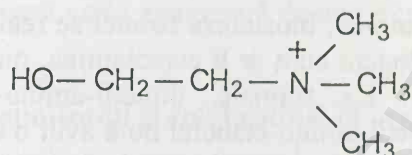
Insuficiența alimentară colinică se manifestă la animale printr-o acumulare masivă de grăsimi în ficat, însoțită de degenerescență grasă hepatică și perturbări ale funcțiilor acestui organ. În final, țesutul hepatic se necrozează și ciroza începe să se dezvolte treptat.

În alte organe, de exemplu la nivelul rinichilor, apar unele procese patologice cum ar fi hemoragiile degenerative, perturbarea funcțiilor etc.

În cazul absenței colinei din hrana femelelor de șobolan în perioada lactației se observă că noii-născuți sucombă în masă.

3.12.3.2. Structura chimică. Proprietăți

Structura chimică a colinei a fost confirmată prin sinteza ei în laborator.



Colina se prezintă sub forma unor soluții siropoase vâskoase, incolore și cu o reacție alcalină. Formează cu ușurință săruri, este higroscopică, ușor solubilă în apă și alcool și insolubilă în eter.

Din soluțiile alcoolice, în prezența acidului clorhidric, colina cristalizează sub forma unor cristale aciforme, care reprezintă sarea hidroclorică a colinei, iar din amestecurile de alcool-eter cristalizează sub forma unor plachete.

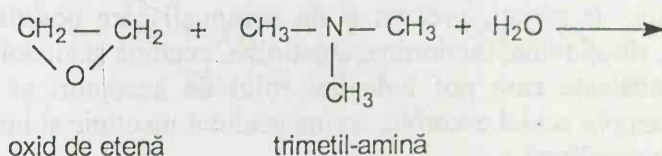
3.12.3.3. Răspândirea colinei în produsele naturale

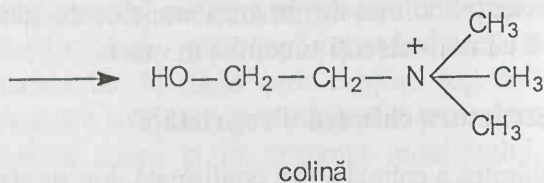
În general, toate țesuturile animale și vegetale, care conțin mici cantități de fosfolipide, sunt bogate în colină care intră în structura lecitinelor (colinfosfolipidelor).

Sursele naturale importante pentru conținutul lor în colină sunt: creierul, bila, gălbenușul de ou, laptele, ficatul sau rinichiul. În ouă, colina este concentrată exclusiv în gălbenuș unde cantitatea ei variază între 180 – 300 mg. Cantități importante de colină se găsesc în colostrul animalelor domestice.

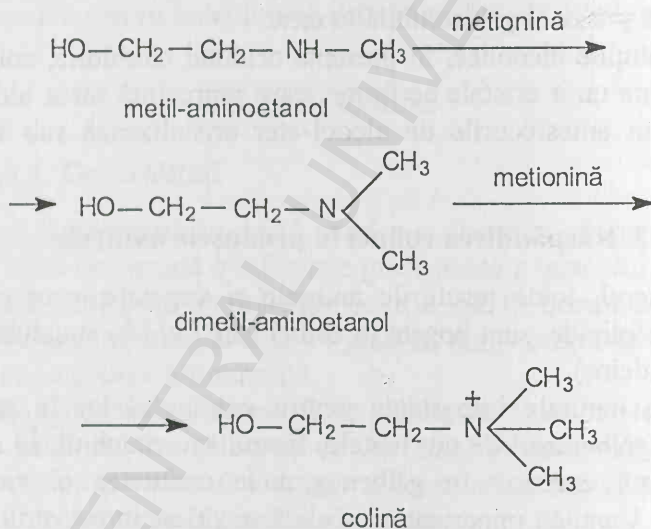
3.12.3.4. Sinteza colinei

Se realizează relativ ușor din produse inițiale simple și constă din acțiunea la temperatură obișnuită a unei soluții apoase concentrate de trimetilamină asupra etilenoxidului:





În organismul animal, biosinteza colinei se realizează prin metilarea diferiților compuși endogeni cum ar fi etanolamina, metil-amino-etanolul și dimetil-amino-etanolul. La animale, dimetil-amino-etanolul stimulează creșterea, în timp ce metil-amino-etanolul nu a avut o asemenea acțiune, iar metionina are un efect pozitiv numai în cazul când este administrată cu una din cele două substanțe. Metilarea lor în prezența metioninei se realizează enzimatic conform reacțiilor:



Diferite organisme pot utiliza în mod deosebit precursorii biosintezei colinei. De exemplu, organismul cobaiului poate folosi numai dimetil-amino-etanolul.

Biosinteza colinei a fost demonstrată și în procesul de germinare a semințelor plantelor superioare când, în decursul primelor patru zile de germinare se acumulează cantități apreciabile de colină. Ulterior, aceasta începe să diminueze treptat. Procesul biosintetic este stimulat de ioni de potasiu, amoniu, de nitrați, precum și de compuși care posedă gruparea metil: tiamina, riboflavina, metionina, creatinina, acetona și alcoolul metilic.

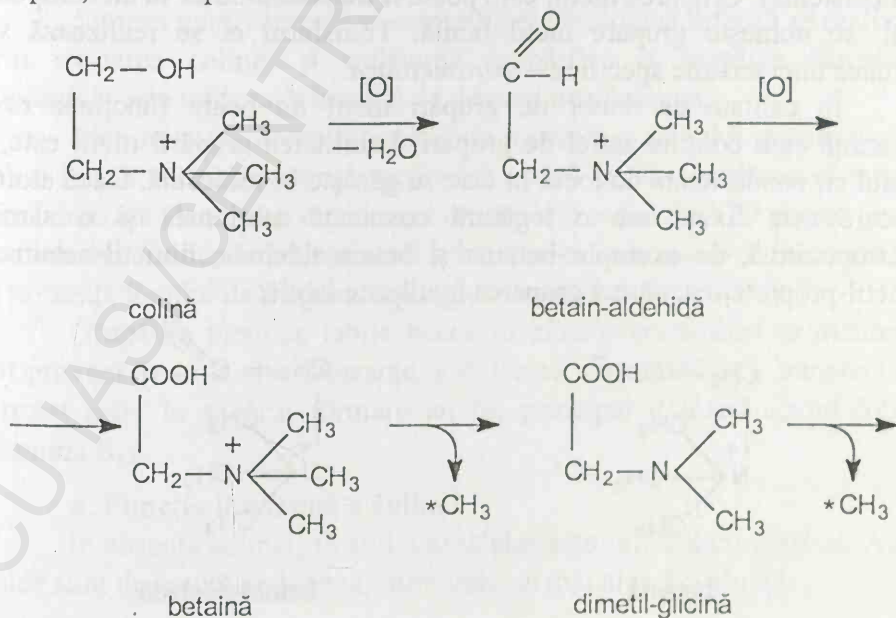
Alte substanțe care pot îndeplini rolul de acceptori ai grupărilor metilice, de exemplu acidul ascorbic, amina acidului nicotinic și homocisteina inhibă biosinteza colinei.

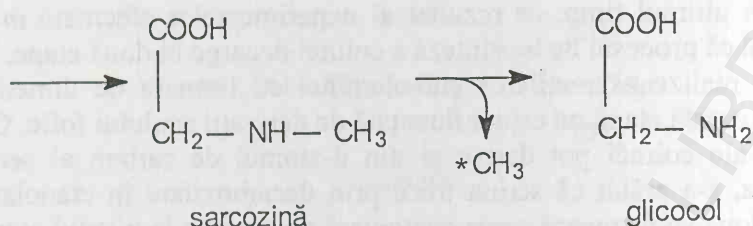
În ultimul timp, ca rezultat al experimentelor efectuate *in vitro* se consideră că procesul de biosinteză a colinei decurge în două etape. În prima etapă se realizează metilarea etanolaminei cu formare de dimetil-etanolamină. Această etapă nu este influențată de derivații acidului folic. Grupările metilice ale colinei pot deriva și din β -atomul de carbon al serinei. De asemenea, s-a arătat că serina trece prin decarboxilare în etanolamină. În etapa a doua se formează sarea cuaternară de amoniu la nivelul atomului de azot al colinei.

3.12.3.5. Metabolismul și rolul colinei în organismul animal

Colina îndeplinește un rol esențial în asigurarea funcționării normale a organismelor animale, îndeplinind următoarele funcții:

- donator de grupări metil pentru sinteza endogenă a diferiților compuși cu rol biologic;
- rol structural deosebit prin participarea sa în biosinteza unor fosfolipide (fosfatilcolinele și fosfatidiletanolaminele);
- substrat inițial pentru formarea acetilcolinei, principalul mediator chimic în transmiterea, la nivelul parasimpatic, a fluxului nervos și în sinteza butiril-colinei din țesutul nervos;
- factor cu acțiune lipotropă, colina participă la transportul lipidelor în organism. Colina este oxidată cu formare de betaină care, ulterior, prin demetilare treptată poate trece în glicocol. Grupările metil sunt cedate unui acceptor, de exemplu homocisteina:



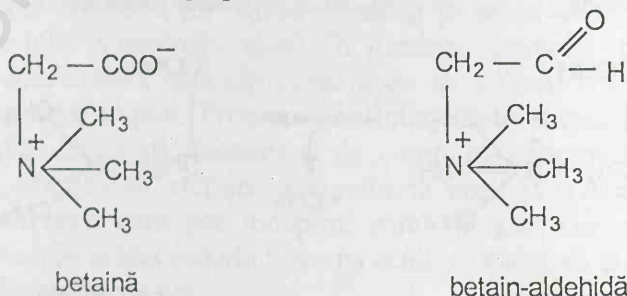


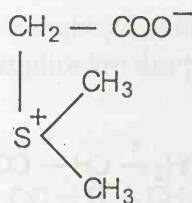
La metabolismul colinei participă două enzime care posedă FAD în calitate de coenzimă. Funcția acestor enzime constă în transportul hidrogenului de la colină la sistemul citocromic. Din omogenatele ficatului de șobolan au fost izolate cele două enzime, și anume *colin-oxidaza*, a cărei activitate optimă este la pH = 6,7 și a fost depistată în fracția mitocondrială și, respectiv, *betain-aldehid-oxidaza* cu activitate maximă la pH = 7,8 și identificată în supernatantul obținut după centrifugarea omogenatelor (deci solubilă în citosol).

Activitatea *colin-oxidazei* este inhibată de ATP care concurează cu FAD-ul pentru apoenzimă. Activitatea acestei enzime crește cu vârsta, în timp ce activitatea *betain-aldehid-oxidazei* este mare chiar la noii-născuți, deși ambele enzime necesită același cofactor – FAD-ul.

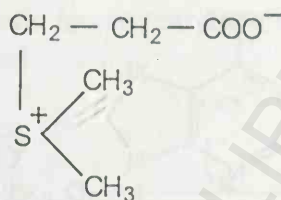
Mecanismul de transfer al grupării metilice intacte poartă numele de transmetilare și presupune, pe de o parte un donor de grupări metilice (în cazul de față biotina), iar pe de altă parte un acceptor al acestora (respectiv homocisteina). Gruparea metil, care poate fi transferabilă de la un compus la altul, se numește grupare metil labilă. Transferul ei se realizează sub acțiunea unei enzime specifice – *transmetilaza*.

În calitate de donor de grupări metil nu poate funcționa orice substanță care conține astfel de grupări. Labilitatea grupării metil este, la rândul ei, condiționată de locul în care se găsește în moleculă. Dacă atomul la care este fixată are o legătură covalentă adițională și o sarcină electropozitivă, de exemplu betaina și betain-aldehida, dimetil-betaina și dimetil-propiotetina, atunci gruparea metil este labilă:





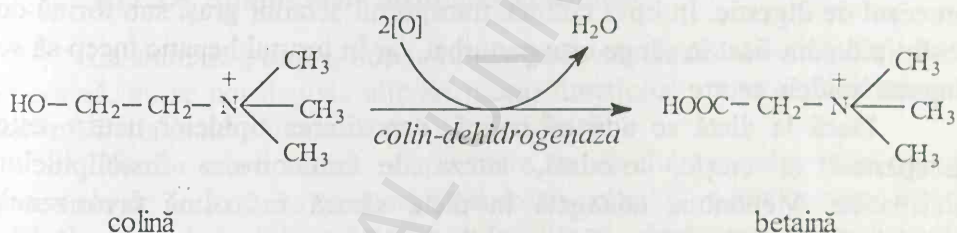
dimetil-tetină



dimetil-propiotetină

Compușii din această categorie pot funcționa ca donori de grupe metil. Colina și metionina nu pot îndeplini această funcție decât după transformarea lor în betaină și, respectiv, în metionină activă.

Transformarea colinei în betaină în țesuturile mamiferelor se realizează sub acțiunea unui sistem multienzimatic oxidativ cunoscut sub numele de *colindehidrogenaza*:



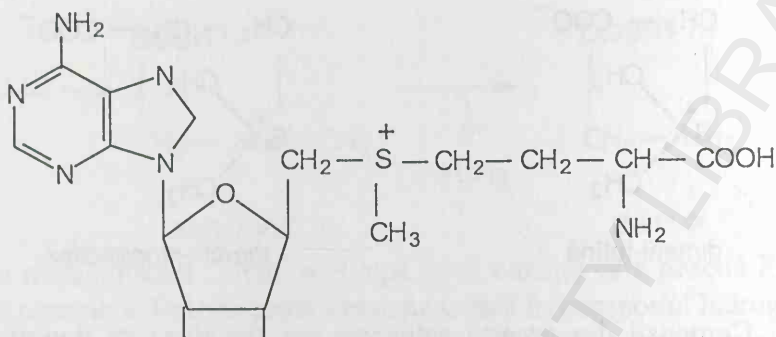
Sinteza unor compuși cu semnificație biologică diferită se realizează prin oxidarea colinei și utilizarea grupărilor ei metilice. Biosinteza metioninei este totdeauna însoțită de demetilarea betainei.

Metionina participă la reacția de metilare a acidului guanidin-acetic sub o formă specială, numită metionină activă în care gruparea ei metilică este labilizată. Activarea metioninei are loc sub acțiunea ATP și este însoțită de formarea S-adenozil-metioninei sub acțiunea *metionin-trans-adenozilazei* în prezența ionului de magneziu și a glutatationului redus.

Grupările metilice labile necesare biosintezei colinei și metioninei pot proveni și de la alte substanțe, sub forma unor unități C_1 transferate ca formiat activ în a cărui formare un rol principal îl joacă acidul folic și vitamina B_{12} .

a. Funcția lipotropă a colinei

În absența colinei, ficatul animalelor este infiltrat cu grăsimi. Aceste lipide sunt de natură endogenă, formându-se mai ales din glucide.



S-adenozil-metionină
(metionină activă)

La nivelul ficatului, biosinteza fosfolipidelor decurge cu o anumită viteză și este menită să elibereze țesutul hepatic de acizii grași rezultați din procesul de digestie. În lipsa colinei, transportul acizilor grași sub formă de fosfolipide din ficat în sânge este perturbat, iar în țesutul hepatic încep să se depună lipidele neutre.

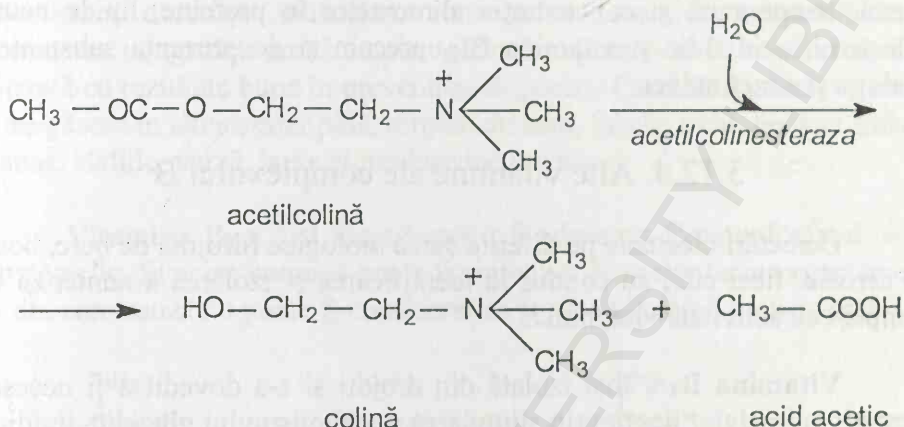
Dacă la dietă se adaugă colină, depozitarea lipidelor neutre este îndepărtată și crește, totodată, viteza de reînnoire a fosfolipidelor plasmatiche. Metionina, adăugată în dieta săracă în colină favorizează evacuarea acizilor grași din ficat și micșorează necesitatea organismului în colină ceea ce se explică, probabil, prin aceea că gruparea metilică a metioninei este utilizată în organism pentru sinteza colinei.

Sistemele enzimatice prezente în mitocondriile ficatului catalizează două căi diferite de încorporare a colinei în colin-fosfolipide. Una din aceste căi necesită prezența ATP și CoA-SH și constă în încorporarea directă a colinei în fosfolipide, fără formarea unui compus intermediar. Sistemul enzimatic care catalizează acest proces are o activitate optimă la pH = 9,4. Calea secundară se desfășoară cu formarea unui produs intermediar – fosforil-colina – care este rezultatul reacției dintre ATP și colină. Acest produs este transportat la un acceptor care este un acid fosfatidic prin intermediul citidin-trifosfatului (CTP).

b. Funcția de precursor a acetilcolinei

Reacția de acetilare a colinei necesită prezența acetatului activ sub formă de acetil-CoA. Acetilcolina participă la transformările biochimice care stau la baza excitației neuromusculare și împreună cu *acetilcolinesteraza*,

enzimă ce scindează acetilcolina, se întâlnește în cea mai mare cantitate în celulele ganglionare din țesutul nervos central.



3.12.3.6. Simptomele insuficienței colinice

La animalele tinere, după primele patru săptămâni de viață deficitară în colină, nu se pot depista alterări morfo-funcționale la nivelul rinichilor, dar infiltrația grasă a ficatului este deja evidentă.

Ulterior, cu o viteză relativ mare, la nivelul țesutului renal încep procesele de necroză, se constată o mărire în volum a organului respectiv și schimbarea culorii lui caracteristice însoțite de fenomene de hemoragie degenerativă care se accentuează dacă dieta este deficitară și în metionină.

În acest caz, hemoragia se generalizează și la nivelul plămânilor, glandelor suprarenale, aparatului vizual și altor organe și, în cele din urmă, animalele sucombă.

3.12.3.7. Antagoniștii colinei

Dacă la dieta total deficitară în colină se adaugă cistină, simptomele clinice ale insuficienței sunt mai puternice. Introducerea în dietă a 2-amino-2-metil-propanului și a dimetil-trictil-colinei determină apariția simptomelor de insuficiență colinică, vindecabile numai prin tratamentul cu colină.

β,β -Dimetil-cisteina (sau L-penicilamina) inhibă creșterea normală la șobolanul alb, inhibiția putând fi anihilată numai prin administrare de colină.

3.12.3.8. Necesarul zilnic de colină

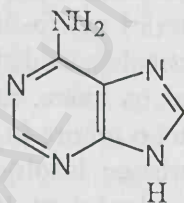
Necesarul zilnic în aport exogen de colină a fost stabilit pentru unele specii de bacterii și unele specii de mamifere și păsări. Pentru șobolanii în

creștere, zilnic sunt necesare 10 mg colină, pentru câini 35 mg/kg corp, iar la pui de găină 75 mg zilnic. Dozele zilnice necesare sunt, însă, în funcție de vârstă, temperatură și concentrația alimentelor în proteine, lipide neutre, colesterol, acid folic și vitamina B₁₂, precum și de prezența substanțelor analoge și a metioninei.

3.12.4. Alte vitamine ale complexului B

Cercetări efectuate pe diferite surse biologice (drojdia de bere, boabe de cereale, ficat etc.) au condus la identificarea și izolarea a numeroși alți compuși cu activitate vitaminică.

Vitamina B₄ a fost izolată din drojdii și s-a dovedit a fi necesară creșterii animalelor tinere prin stimularea metabolismului glucidic, lipidic și proteic. S-a demonstrat ulterior că produsul respectiv este **adenina** ce poate fi sintetizată de toate organisme vii, din care cauză apartenența ei la clasa vitaminelor este discutabilă.



adenină

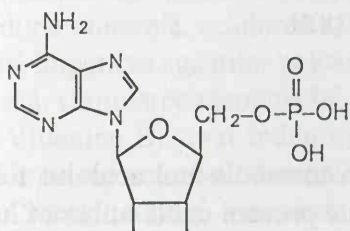
Vitamina B₄ are funcții și indicații terapeutice mai puțin cunoscute. Alături de alte vitamine B intervine atât în funcțiile sistemului nervos cât și cele ale sistemului hematopoietic, favorizează absorbția fierului, participă la metabolismul unor aminoacizi și la biosinteza acizilor nucleici. Carența vitaminei B₄ modifică echilibrul leucocitar prin producerea leucopeniei și granulopeniei.

Administrarea sulfamidelor și a antibioticelor crește consumul de vitamină B₄. Sintetizarea vitaminei B₄ de către flora bacteriană intestinală este redusă la om, absorbția vitaminei B₄ realizându-se la nivelul intestinului subțire. În sânge, concentrația cea mai mare de vitamină B₄ este în hematii, iar eliminarea vitaminei se face prin urină, fecale, transpirație.

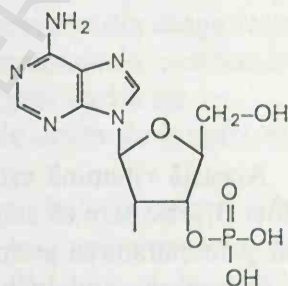
Observație! Deoarece apartenența adeninei la clasa vitaminelor este controversată, astăzi se consideră că adevărata vitamină B₄ este de fapt acidul folic (vezi capitolul 3.4).

Vitamina B₇ face parte, se pare, din structura unor enzime care contribuie la metabolismul proteinelor, glucidelor și lipidelor. Are rol în ameliorarea durerilor musculare consecutive efortului și contribuie la menținerea integrității pielii. Împiedică încărunțirea și căderea părului, fiind utilizată cu rezultate bune în prevenirea alopeciei. Cantități mari de vitamină B₇ se găsesc în alune, conopidă, drojdie de bere, fasole, grâu, pepene galben, spanac, stafide, varză, lapte și produse lactate etc.

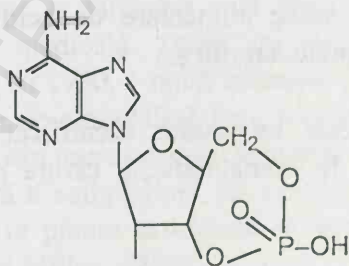
Vitamina B₈ a fost identificată a fi adenzin-5'-monofosfatul ciclic sau neciclic. Și acest compus poate fi sintetizat de majoritatea organismelor vii din care cauză nu poate fi considerat ca fiind o vitamină propriu-zisă.



Acid adenzin-5'-
-monofosforic (5'-AMP)



Acid adenzin-3'-
-monofosforic (3'-AMP)



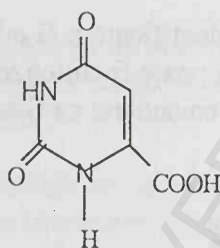
cAMP

Observație! Ca și în cazul adeninei, apartenența adenzin-monofosfatului la grupa vitaminelor este controversată. De aceea, actualmente, se consideră că vitamina B₈ este biotina sau vitamina H (vezi capitolul 3.7).

Vitaminele B₁₀ și B₁₁ sunt extracte hepatice în care principiile active sunt amestecuri de pteroilglutamat și vitamină B₁₂.

Vitamina B₁₀ contribuie la metabolismul fierului și la formarea hematiilor. Favorizează sinteza acidului folic și absorbția acidului pantotenic. Lipsa vitaminei B₁₀ duce la încăruntire și apariția eczemelor.

Vitamina B₁₃ este de fapt acidul orotic (acid uracil-6-carboxilic). Suplimentarea rației alimentare cu acid orotic influențează pozitiv creșterea organismelor tinere și metabolismul general.



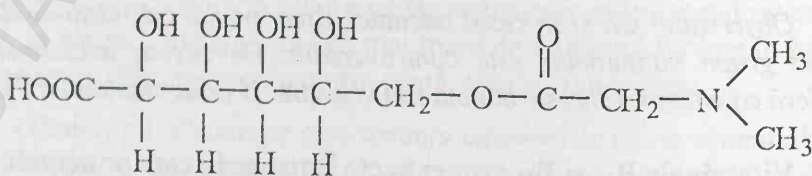
Acid orotic

Această vitamină este implicată în metabolismul acidului folic și a vitaminei B₁₂. Se pare că acidul orotic poate preveni unele tulburări hepatice precum și îmbătrânirea prematură a organismului. S-a demonstrat că acidul orotic protejează celulele hepatice, facilitează eliminarea acidului uric și favorizează dezvoltarea florei intestinale. Simptomele hipovitaminozei B₁₃ nu sunt încă bine cunoscute.

Cele mai bune surse alimentare de acid orotic pentru om sunt plantele rădăcinoase, laptele, iaurtul ș.a

Vitamina B₁₄ este un produs identificat în urină cu proprietăți stimulatorie având rol în hematopoieză, căruia nu i s-a determinat încă structura chimică.

Vitamina B₁₅ sau acidul pangamic adică acidul O-(N,N-dimetilglicil)-6-D-gluconic:



Acid pangamic

Cantități crescute de vitamină B₁₅ se găsesc în drojdia de bere, orezul și grâul integral, semințele de dovleac și de susan, precum și în multe alimente de origine animală. Intervine în procesele enzimatice și, în cantitate de 2 mg/zi, acoperă nevoile organismului.

Încă nu este foarte bine studiată și de aceea nu este considerată de fapt o vitamină în adevăratul sens al cuvântului, deoarece nu s-a demonstrat rolul ei indispensabil în procesul de nutriție. Datorită faptului că este un antioxidant, are acțiune asemănătoare cu a vitaminei E. Are efecte maxime administrată împreună cu vitaminele A și E.

Studiile cu privire la vitamina B₁₅ sunt limitate. Totuși, printre acțiunile benefice ale acesteia, se pot număra: protejarea ficatului împotriva cirozei, mărirea duratei de viață a celulelor, diminuarea nevoii de alcool, recuperarea rapidă după oboseală, scăderea nivelului colesterolului din sânge, asigurarea protecției împotriva agenților poluanți, atenuarea simptomelor crizelor de astm și anghină, stimularea răspunsului imunitar al organismului etc.

Vitamina B₁₅ mai îndeplinește și rolul de donor de grupări metil în procesele de biosinteză a hormonilor steroidici.

Carența acestei vitamine poate provoca: boli de inimă, afecțiuni nervoase și glandulare, insuficienta oxigenare a țesuturilor și altele. Nu s-au înregistrat cazuri de toxicitate ale vitaminei B₁₅. Ca și în cazul altor vitamine, umiditatea și lumina solară influențează negativ această vitamină.

Vitamina B₁₇ este o vitamină mai puțin cunoscută, dar foarte controversată în lumea medicală. După ani de cercetări, biochimistul dr. *Ernest Krebs* a izolat, în 1950, o nouă vitamină pe care a denumit-o B₁₇, cunoscută și sub numele de amigdalină (sau *laetrile*). Termenul de laetril este un acronim (provine din *laevorotatory* și *mandelonitril*) utilizat pentru a descrie o formă purificată a amigdalinei, un glucozid cianogenic întâlnit în semințele unor fructe și în plante ca trifoiul și sorgul (*Dorr and Paxinos, 1978; Howard-Ruben and Miller, 1984*).

Amigdalina era cunoscută cu mii de ani în urmă, în China și Egiptul antic, fiind extrasă din migdale amare (de unde vine și denumirea). Un papirus egiptean, vechi de peste 5000 de ani, menționează utilizarea „*aqua amigdalorum*” în tratamentul unor tumori ale pielii.

Grecii și romanii s-au folosit, la rândul lor, de proprietățile terapeutice ale amigdalinei. De asemenea, numeroase triburi de indieni (Navajo, Karakorum etc.) consumă frecvent băuturi preparate din sămburi de fructe, bogate în amigdalină, în rândul acestora neînregistrându-se nici un caz de cancer.

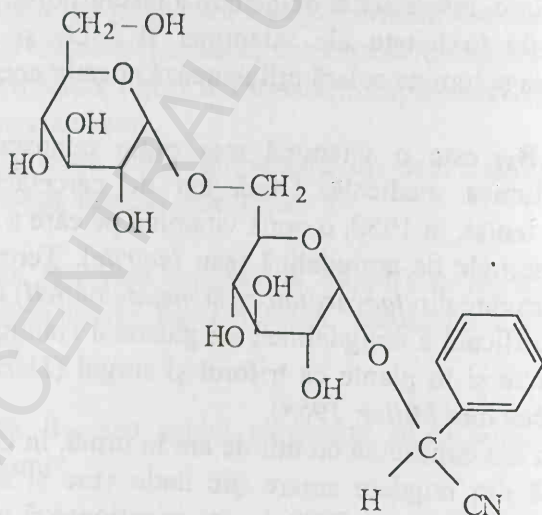
Nu se știe de partea cui este dreptatea, timpul și cercetările ce vor fi întreprinse vor lămurii această dispută. Poate că sursa naturală (sâmburele) este mult mai bună decât compusul comercial.

Oamenii care iau regulat vitamina B₁₇ nu au făcut niciodată cancer; aceasta se vede la membrii tribului Hunza care au o dietă bazată în special pe o legumă ce conține cantități mari de vitamină B₁₇ și care trăiesc până la 90 de ani și nu au cazuri de cancer.

De asemenea, se pare că vitamina B₁₇ e folositoare chiar și în vindecare nu doar în prevenire. Mărul și semințele de măr conțin vitamină B₁₇.

A fost utilizată ca agent antitumoral în Rusia încă din 1845 cu rezultate pozitive observate chiar în cazul primului pacient tratat. În anii 1920, a fost introdusă în SUA ca tratament pentru cancer și a început să fie administrată sub formă de pilule. Formula sa s-a demonstrat a fi, însă, toxică (Curt, 1990). În 1950, după ani de cercetări, biochimistul Ernest Krebs a izolat o formă netoxică, cu administrare intravenoasă, care a primit denumirea de laetril (Chandler et al., 1984).

Amigdalina este alcătuită din două molecule de glucoză, o moleculă de acid cianhidric și o moleculă de benzaldehidă:



În rețetele medicale ce conțin vitamina B₁₇, acest compus este cunoscut sub numele nitrilozidă și se extrage din sâmburii de caise. Aceștia reprezintă cea mai bogată sursă naturală de vitamina B₁₇. În general, semințele fructelor (mai puțin citricele) conțin această substanță, care le conferă un gust amarui specific. Se face din ce în ce mai auzită opinia conform căreia cancerul ar fi o boală cauzată de o deficiență nutrițională.

Nu ar fi vorba despre o bacterie, un virus sau o toxină misterioasă ci, pur și simplu, despre absența unei substanțe pe care omul modern a eliminat-o din dieta sa: vitamina B₁₇. Conform studiilor lui Krebs, consumul zilnic a șapte – zece sâmburi de caise previne apariția cancerului.

Au fost avansate patru teorii pentru a explica activitatea antitumorală a laetrilului. Prima dintre ele încorporează elemente ale teoriei trofoblastice a cancerului, neacceptată de toți cercetătorii. Conform acestei teorii, toate tipurile de cancer provin din celule germinale primordiale care în condiții normale dau naștere spermatozoizilor și ovulelor. Unele dintre aceste celule germinale se dispersează în organism în timpul dezvoltării embrionare. Transformarea celulelor primordiale în celule canceroase este, în mod normal, prevenită prin acțiunea unor enzime pancreatice. Teoria trofoblastică susține faptul că prin administrarea de suplimente de enzime pancreatice și de laetril, cancerul poate fi eliminat (*Krebs et al.*, 1950). S-a sugerat faptul că laetrilul este modificat la nivelul ficatului, iar enzima β -glucuronidază hidrolizează compusul nou format, rezultând cianură. Tiosulfat-sulfur-transferaza poate converti cianura în tiocianat, substanță relativ sigură pentru organism. Motivația de a utiliza laetrilul este aceea că celulele maligne ar avea cantități mai mari decât cele normale de β -glucuronidază și mai mici de tiosulfat-sulfur-transferază (*Ross*, 1985).

A doua teorie susține faptul că celulele canceroase prezintă o activitate β -glucozidazică mai mare decât celulele normale și, la fel ca în prima teorie, o activitate scăzută a tiosulfat-sulfur-transferazei (*Ellison*, 1980). Cercetările au demonstrat, însă, faptul că această teorie nu are suport practic deoarece celulele canceroase și cele normale prezintă cantități similare de tiosulfat-sulfur-transferază.

În plus, cele mai multe tipuri de celule de mamifere prezintă doar foarte mici cantități de β -glucozidază, iar această enzimă nu a fost detectată în probe de țesut tumoral și nici în sânge (*Biaglow and Durand*, 1978). Fără un nivel sanguin suficient de β -glucozidază, este dificil ca amigdalina să fie scindată în componenții săi.

A treia teorie susține faptul că boala canceroasă este un rezultat al unui dezechilibru metabolic cauzat de o deficiență vitaminică și că administrarea laetrilului poate reinstaura starea de sănătate (*Lerner*, 1984). Nu există, însă, probe convingătoare care să susțină faptul că laetrilul este indispensabil organismului normal (*Young and Newberne*, 1981).

A patra teorie sugerează faptul că cianura eliberată de către laetril are efecte toxice în sensul că mărește aciditatea la nivelul tumorii și conduce

la distrugerea lizozomilor. Aceștia din urmă își eliberează conținutul care va distruge celula canceroasă și, în plus, va declanșa activitatea unor celule cu rol în imunitate (Greenberg, 1980).

În anii 1970, laetrilul a câștigat o mare popularitate ca agent anticanceros. Până în 1978, mai mult de 70 000 de persoane au fost tratate în Statele Unite cu laetril (Lerner, 1981). Substanța a fost utilizată în tratamentul cancerului ca atare sau în combinație cu terapia metabolică ce a constat într-o dietă specializată, suplimente vitaminice în doze mari și enzime pancreatice (Moertel et al., 1982).

În SUA, pentru a putea desfășura experimente pe oameni, cercetătorii trebuie să obțină aprobarea forurilor superioare. Aprobarea în cazul laetrilului a fost refuzată deoarece experimentele pe animale nu au evidențiat un efect pozitiv. Susținătorii acestei terapii au considerat că guvernul încearcă să blocheze accesul la o terapie promițătoare și au realizat o serie de presiuni pe lângă Curtea Supremă de Justiție până când laetrilul a fost legalizat în mai mult de 20 de state. Această stare de legalitate a durat doar până în 1980 (Curran, 1980).

Deși denumirile de laetril, laetril și amigdalină sunt utilizate adesea pentru a defini aceeași substanță, totuși nu reprezintă același produs. Compoziția chimică a produsului patentat în SUA (Laetril) (mandelonitril- β -glucuronid), un derivat semisintetic al amigdalinei este diferită de a laetrilului/amigdalinei produse în Mexic (mandelonitril- β -D-gentiobiozid) din caise zdrobite (Fenselau et al., 1977).

Laetrilul poate fi administrat oral, intravenos sau intramuscular. Incidența otrăvirii este mai mare dacă laetrilul este ingerat deoarece bacteriile intestinale și unele plante ingerate conțin β -glucozidaze care eliberează cianura (Gostomski, 1978).

Experimentele pe animale au vizat șoarecii, șobolanii, câinii și iepurii. În două studii publicate în 1975, șoareci și șobolani au fost tratați cu injecții intraperitoneale de amigdalină, cu sau fără β -glucozidază. Niciuna dintre tumorile investigate nu a răspuns la dozele de amigdalină testate și nu a fost constatată prelungirea vieții în nici unul dintre cazuri (Wodinsky and Swiniarski, 1975). Rezultate similare au fost constatate prin implantarea de țesut de cancer uman de sân și colon la șoareci (Ovejera et al., 1978).

Unele studii pe diverse linii celulare au evidențiat, însă, rezultate pozitive. În primul studiu amigdalina a realizat o amplificare a activității antitumorale a unei combinații de enzime și vitamină A, însă doar pentru amigdalină nu s-a observat nici un efect (Manner et al., 1978).

În al doilea studiu, au fost utilizate celule sanguine albe și celule de cancer de prostată pentru a investiga potențialul amigdalinei de a stimula sistemul imunitar. Rezultatul a fost o stimulare semnificativă din punct de vedere statistic (*Bhatti et al.*, 1981).

Al treilea studiu a investigat abilitatea amigdalinei și a β -glucozidazei de a sensibiliza celulele hipoxice din centrul unei tumori la efectele radiațiilor gamma și a avut, de asemenea, rezultate pozitive (*Biaglow and Durand*, 1978).

Într-un al patrulea studiu, celule de cancer de vezică urinară au fost tratate cu amigdalina și cu o combinație între amigdalina și un anticorp cuplat la β -glucozidază. Ținta acestui anticorp a fost o glicoproteină ale cărei forme aberante se întâlnesc în cantitate mare la exteriorul mai multor tipuri de celule canceroase. În acest caz amigdalina ca atare nu a fost deosebit de eficientă, însă combinația sa cu complexul enzimă-anticorp i-a crescut capacitatea de distrugere a celulelor de 36 de ori (*Syrgos et al.*, 1998).

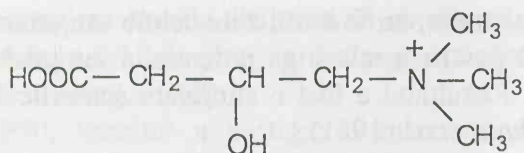
În ceea ce privește testele realizate pe subiecți umani, foarte puține date au fost publicate. Astfel, zece pacienți cu metastaze au fost tratați cu Laetril și s-a observat o diminuare a durerii asociate bolii și o reducere a dimensiunii tumorilor. Totuși, pacienții nu au fost investigați pe termen lung pentru ca rezultatele să fie suficient de concludente.

Benzaldehida este un alt produs de degradare a amigdalinei care a fost testat pentru a identifica un posibil efect antitumoral. Două teste au fost semnificative, jumătate din pacienții tratați manifestând efecte pozitive pe termen lung (*Kochi et al.*, 1985).

Efectele secundare asociate tratamentului cu laetril sunt asemănătoare otrăvirii cu cianuri. Cianura este o neurotoxină care poate cauza amețeli, greață, cefalee, cianoză, alterări la nivelul ficatului, hipotensiune, febră, confuzie mentală, comă și, în final, moartea. Simptomele pot fi potențate de consumul în paralel de migdale, legume și fructe bogate în β -glucozidază (țelină, piersici, morcovi) și mari cantități de vitamina C.

Tratamentul cancerului cu vitamina B₁₇ este ilegal în SUA – pacienții suferinzi de cancer care-și pun speranțe în această metodă trebuind să urmeze tratamentul specific la clinici din alte țări: Australia, Germania, Belgia, Anglia, Grecia, Israel, Italia, Mexic, Peru, Spania, Elveția etc. Costul unui astfel de tratament variază între 2000 și 5000 USD pe săptămână. Până ce medicina modernă va proba eficiența sau ineficiența acestui tratament, un ... „sâmbure de adevăr” există.

Vitamina B_r sau vitamina T, denumire atribuită carnitinei, îndeplinește rol de factor de creștere pentru unele insecte:



Ca și vitamina U, vitamina T este foarte puțin studiată și a fost identificată în gălbenușul de ou și semințele de susan. Vitamina T este un factor biologic esențial pentru insecte. Inițial, s-a descoperit că viermele de făină *Tenebrio molitor*, nu se poate dezvolta și supraviețui în lipsa unei substanțe indispensabile care a fost numită **factor T**, după numele viermelui.

Vitamina T este un factor de creștere pentru numeroase insecte intervenind și în metamorfozarea acestora. Mai târziu, s-a descoperit acțiunea biologică și fiziologică a vitaminei T asupra organismului uman.

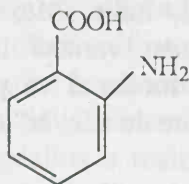
După 55 de ani de la descoperirea factorului T, s-a constatat faptul că acesta acționează activ și la om (1975). Cu această ocazie, vitamina T a primit denumirea de carnitină. Deși acțiunea carnitinei asupra organismului uman nu este nici până azi pe deplin elucidată, se știe că îndeplinește un rol biochimic de donor de grupări metilice (agent de metilare). Prin această activitate, carnitina se dovedește a fi o substanță pancreotropă (stimulează secreția pancreatică).

În pancreas, carnitina accelerează mai ales producția de *hormon lipocic* care îndeplinește un rol lipotrop activ. Carnitina intervine mai ales în metabolismul lipidelor accelerând degradarea acestora, cu efect mai ales asupra trigliceridelor.

Vitamina T reduce masa adiposă și hiperlipemia. În mod natural, acțiunea carnitinei la mamifere se desfășoară în analogie cu betaina și colina. Carnitina sintetică și semisintetică se folosește astăzi pe larg ca supliment alimentar (pentru sportivi, pentru slăbit).

Pe termen scurt (este un supliment relativ nou) nu s-au constatat efecte secundare, dar este posibil ca, din cauza efectului stresant exercitat asupra pancreasului, să dăuneze pe termen lung sănătății.

Vitamina L este considerată a fi acidul antranilic.

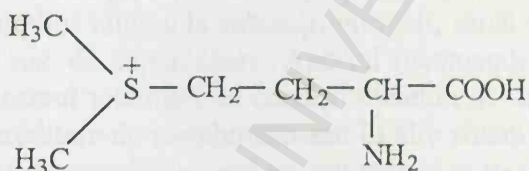


acid antranilic

Vitamina B_x (acidul *p*-aminobenzoic) este o vitamină de origine exclusiv microbiană, nefiind însă complet studiată sub aspectul rolului său biologic.

Acid *p*-amino-benzoic

Relativ recent a fost izolată și studiată **vitamina U** (vitamina antiulceroasă, agent gastrointestinal) care este S-metil-metionin-sulfonatul utilizat în medicină în profilaxia și tratamentul gastritelor, colitelor, ulcerului, în cicatrizarea plăgilor postoperatorii.



Vitamina U

Cercetări clinice au demonstrat faptul că metil-metionin-sulfonatul (vitamina U) manifestă o acțiune benefică asupra mucoaselor, iar administrarea sa în ulcerul gastric și cel duodenal determină o ameliorare considerabilă a acestor maladii. Cele mai bune surse alimentare de vitamină U sunt varza și sucul crud de varză, tomatele, ceaiul verde, fructele foarte proaspete.

În 1950, *Garnett Cheney M. D.* demonstrează faptul că sucul de varză crudă determină o creștere considerabilă a gradului de vindecare a pacienților cu ulceratii gastrointestinale.

Doi ani mai târziu, același autor face un experiment pe 100 pacienți cu ulcer gastric cărora le-a dat zilnic câte patru pahare de suc proaspăt de varză, suprimând tratamentul medicamentos. În urma acestui experiment s-a constatat o diminuare drastică a durerilor la 81% dintre subiecți după o săptămână și o vindecare aproape completă a ulcerului la toți pacienții după o lună de cură cu suc proaspăt de varză. În același timp a observat că sucul de varză încălzit și sucul obținut cu câteva ore înainte de administrare (deci nu sucul foarte proaspăt) sunt total ineficiente.

Preparatul mai manifestă o oarecare acțiune de prevenire a sclerozei. Se pare că cea mai bună sursă alimentară de vitamină U pentru om este varza crudă.

Avitaminoza U este extrem de rar întâlnită și doar la anumite grupe de risc cum ar fi subiecții cu grad foarte mare de subnutriție, pacienții hrăniți timp foarte îndelungat exclusiv pe cale parenterală (perfuzii) etc.

4. VITAMINELE ȘI NUTRIȚIA

4.1. Aport nutrițional

Expresia „aport recomandat” utilizată în capitolele anterioare pentru fiecare vitamină în parte desemnează cantitatea de vitamină care, ingerată zilnic prin alimente sau sub formă de preparate farmaceutice, garantează acoperirea necesităților zilnice la subiecții normali, sănătoși în așa fel încât să se evite orice risc de supradozare. Aportul recomandat nu include, sub nici o formă, necesarul vitaminic în condiții dietetice și terapeutice speciale întâlnite în boli ereditare de metabolism sau în alte situații patologice și **nu trebuie confundat** cu necesitățile unui anumit individ în particular (*Muri et al., 1999*).

Primele doze zilnice recomandate (*RDA-Recommended Dietary Allowance*) au fost publicate în 1943 de către Ministerul Alimentației și Nutriției din SUA. Aceste date au fost în permanență adaptate în funcție de noile condiții de trai și de descoperirea de noi vitamine, ultima reeditare datând din 1980. FAO și OMS au definit, de asemenea, necesitățile zilnice în vitamine ale organismului uman, ținându-se cont de populația întregului glob (*Russell and Suter, 1993*). Dată fiind marea diversitate de obiceiuri culinare la diferite popoare precum și marele decalaj al nivelului de trai între diferite țări, datele publicate de FAO și OMS sunt destinate statelor membre ca valori orientative, urmând ca ministerele de profil să le adapteze la condițiile concrete din propriile țări.

Termenul de „*evaluare a necesităților nutriționale*” face referire la compararea aportului nutrițional de vitamine cu doza zilnică recomandată. Cele două noțiuni coincid, din punct de vedere cantitativ, la indivizii sănătoși cu o alimentație variată, echilibrată și suficientă cantitativ (*Coultate, 2009*). Pentru evaluarea celor doi parametri se ține cont, în mod obligatoriu, de următoarele fenomene (*Counsell, 1993*):

- ponderea constituenților alimentari de bază (grâu, lapte, ulei vegetal etc.) și luarea în considerare a modificărilor calitative ce au loc în procesul prelucrării industriale și rafinării;

– pierderile de vitamine în timpul stocării alimentelor, al procesului culinar și, eventual, menținerea la cald a acestora un timp relativ îndelungat în condițiile restaurantelor, cantinelor și altor unități de alimentație publică;

– reglarea aportului caloric;

– limitarea aportului caloric la grupele de risc (cure de slăbire etc.);

– timpul și modul de alimentare: alimentație publică sau familială, regimuri vegetariene, regimuri momentane, posturi etc. (*Cervantes-Laureran et al.*, 1999).

Pentru evaluarea cu precizie a necesităților vitaminice ale unui anumit subiect este absolut necesară cunoașterea pentru fiecare aliment a cantității reale consumate și a conținutului real al fiecărei vitamine în momentul ingerării (*Ball*, 1998; *Brian and Roberton*, 1993). Deseori se fac în paralel și determinări biochimice (concentrația vitaminelor în sânge și urină). În urma unor studii pe voluntari au fost evaluate modificările în ceea ce privește necesarul zilnic de vitamine și minerale în funcție de compoziția hranei (*Knopp*, 1999) (tabelul 4.1).

Tabelul 4.1

Modificarea necesarului zilnic de vitamine și microelemente în funcție de dietă*

Dieta	Necesarul de vitamine și microelemente
Hrană cu conținut preponderent în carbohidrați	– crește necesarul de vitamine B₁, B₆ și C; – scade necesarul de zinc, calciu, crom și mangan; – crește necesarul de plumb
Hrană cu exces de proteine	– crește necesarul de vitamine B₂, B₆ și B₁₂; – scade necesarul de mangan și magneziu; – crește necesarul de sodiu și potasiu
Hrană săracă în proteine	– se diminuează asimilarea vitaminelor B₂ și PP; – scade gradul de conversie a carotenilor în vitamină A; – scade necesarul de zinc, cobalt, fier și cupru; – crește necesarul de cadmiu, plumb și aluminiu

* *Ball*, 1998.

Au fost făcute, de asemenea, studii referitoare la aportul zilnic în vitamine și microelemente a unei diete normale pentru un adult (*Milton*, 2003), în condiții fiziologice normale, dietă corespunzătoare obiceiurilor culinare europene (tabelul 4.2).

Din punctul de vedere al aportului caloric și al elementelor nutritive (2600 calorii, 98 grame proteine, 92 grame lipide, 344 grame carbohidrați) această dietă este perfect echilibrată, în schimb conținutul în vitamine și microelemente este total insuficient.

Tabelul 4.2

Aportul în vitamine și microelemente al unei diete zilnice normale

Dietă zilnică	Aportul de vitamine și microelemente
Micul dejun: – 2 ouă, 10 grame unt – 100 grame brânză – sandwich (100 grame pâine și 10 grame unt) – cafea (20 grame zahăr) Prânz: – salată (100 grame castraveți, 50 grame roșii, 10 grame ulei) – ciorbă (100 grame carne, 30 grame paste făinoase, legume etc.) – felul II (100 grame carne, 150 grame cartofi, 15 grame ulei, 150 grame pâine) – desert (200 ml suc de fructe) Cină: – 125 grame iaurt – 150 grame macaroane – un fruct (~ 150 grame) – o cană de ceai (20 grame zahăr)	– vitamina C – 30 mg – vitamina B₁ – 0,96 mg – vitamina B₂ – 1,5 mg – vitamina B₃ – 13,2 mg – vitamina B₅ – 1,3 mg – vitamina B₆ – 142 μg – vitamina A – 2580 UI – fier – 9,7 mg – cupru – 1,25 mg

* Kolotilova et al., 1976.

Din aceste motive, este imperios necesară înlocuirea parțială a unor alimente sărace în vitamine, dar bogate în lipide și glucide cu altele, ce prezintă un conținut ridicat în vitamine și microelemente (în special legume și fructe proaspete, pește și produse din pește etc.) (Clydestale et al., 1991; Tang et al., 1996).

4.2. Hipovitaminozele la grupele de risc

Unele hipo- și avitaminoze (scorbutul, beri-beri, pelagra etc.) sunt extrem de rare în zilele noastre cu excepția unor țări subdezvoltate unde populația este, în general, subnutrită. Se pare că există, însă, o așa-numită „carență minimală” confirmată prin cercetări în domeniul nutriției și alimentar în diferite state industrializate (Franța, SUA, Canada, Germania, Marea Britanie, Elveția, Belgia, Olanda) (Lardy and Shrago, 1990).

În aceste situații se au în vedere anumite grupuri de populație la care se observă carențe de moment sau de mai lungă durată în funcție de starea

fiziopatologică, modul de viață, obiceiuri culinare etc. Din acest punct de vedere, principalele grupe de risc sunt:

- nou-născuții prematuri;
- femeile în timpul sarcinii și al alăptării;
- femeile ce utilizează mijloace anticoncepționale orale care provoacă unele hipovitaminoze, în special a vitaminei B₆;
- copiii cu pielea puternic pigmentată (negrii, arabii, romii etc.), chiar dacă nivelul de trai este apropiat cu cel occidental;
- adolescenții - în perioada pubertății (necesitățile zilnice în vitamine sunt total diferite decât la alte vârste);
- persoanele obeze care urmează un regim hipocaloric de slăbire;
- alcoolicii, în special marii consumatori de băuturi tari;
- fumătorii pentru care studii recente au pus în evidență un necesar crescut de vitamină C;
- persoanele în vârstă care au, în general, tulburări de absorbție intestinală a vitaminelor;
- persoanele operate la care intervenția chirurgicală s-a făcut la oricare segment al tubului digestiv, inclusiv pancreasul, vezica biliară, ficatul etc.;
- persoanele aflate sub tratament cu antibiotice sau care consumă în mod regulat unele medicamente ce scad capacitatea de absorbție intestinală;
- persoanele care se droghează.

4.3. Aport nutrițional de vitamine

Aportul de diferite vitamine, ingerate simultan cu alimentele este diferit în funcție de vârstă, stare fiziopatologică, uneori sex etc. FAO și OMS au elaborat scheme orientative în funcție de aceste criterii (tabelele 4.3 – 4.8) având în vedere și unele cazuri speciale cum ar fi prematurii, bolnavii perfuzați timp îndelungat etc. La prematuri de exemplu, unde creșterea este mai rapidă decât la nou născuți la termen (1,1 – 1,5 cm/săptămână), necesitățile sunt mai mari la toate vitaminele.

Tabelul 4.3

Necesitățile zilnice în diferite vitamine la prematuri*

Vitamina	U.M.	Aport zilnic necesar
A	U.I.	500 – 800
D	U.I.	400 – 600
E	mg	25 – 30
K	μg	15 – 25

Tabelul 4.3 (continuare)

C	mg	50 – 60
B ₁	mg	0,2
B ₂	mg	0,3 – 0,4
B ₆	mg	0,2 – 0,4
Niacină	mg	4 – 5
Acid pantotenic	mg	1 – 2
B ₁₂	μg	1,5 – 2
Acid folic	μg	20 – 60
Biotină	μg	10 – 12

* Gregory, 1996.

Tabelul 4.4

Vitaminoterapia în patologia prematurului*

Starea fiziopatologică	Scopul vitaminoterapiei	Vitamina administrată
Supraoxigenare	Prevenirea displaziei bronho-pulmonare și a fibroplaziei retro-lentale	E
Hipocalcemie	Creșterea absorbției calciului și mineralizarea oaselor	D ₃
Osteopenie		D ₂
Rahitism	Regim bogat în proteine	C
Hipertirozinemie		B ₆
Hiperfenilalaninemie	Prevenirea oxidării membranare la nivel eritrocitar	E
Fototerapia icterului		B ₂
Anemia prematurului	Evitarea hemolizei oxidative	E Acid folic

* Gregory, 1996.

Tabelul 4.5

Aportul zilnic de vitamină recomandat nou-născuților (0 – 6 luni)

Vitamina	Lapte matern (6 × 120 ml)	Lapte praf (conform normelor occidentale) (6 × 120 ml)	Necesar recomandat
A (U.I.)	820 – 1240	820 – 2480	1400
D (U.I.)	3 – 36	–	400
E (mg)	4,7 – 5	4,7 – 14	3
K (μg)	1,5 – 11	–	12
C (mg)	21 – 28	21 – 84	35
B ₁ (mg)	0,094 – 0,140	0,094 – 0,430	0,3
B ₂ (mg)	0,19 – 0,28	0,19 – 0,84	0,4

Tabelul 4.5 (continuare)

B ₆ (mg)	0,094 – 0,140	0,094 – 0,430	0,3
PP (mg)	0,95 – 1,15	0,95 – 3,46	6
Acid pantotenic (mg)	0,94 – 1,44	0,94 – 4,30	2
B ₁₂ (μg)	0,19 – 0,28	0,19 – 0,84	0,5
	24 – 33	24 – 99	30
	2,9 – 7,2	–	35

* Gregory, 1996 (citat de Rowe et al., 2009).

Tabelul 4.6

Aportul zilnic de vitamine recomandat copiilor mici (6 – 12 luni)

Vitamina	Europa	SUA	Norme OMS
A (U.I.)	1330	1330	1000
D (U.I.)	400 – 600	400	400
E (mg)	3 – 4	4	–
K (μg)	–	10 – 20	–
C (mg)	35	35	20
B ₁ (mg)	0,4	0,5	0,3
B ₂ (mg)	0,6	0,6	0,5
B ₆ (mg)	0,6	0,6	0,5
PP (mg)	6,0	8,0	5,4
Acid pantotenic (mg)	3,0	3,0	–
B ₁₂ (μg)	1,0	1,5	0,3
Acid folic (μg)	50	45	60
Biotină (μg)	50 – 90	50	60

* Gregory, 1996.

Tabelul 4.7

Aportul zilnic de vitamine recomandat copiilor (1 – 12 ani)

Vitamina	1 – 3 ani	4 – 9 ani	10 – 12 ani
A (U.I.)	1330	2000	2670
D (U.I.)	400 – 600	400	400
E (mg)	5 – 7	15 – 20	12 – 16
K (μg)	15 – 30	20 – 60	50 – 100
C (mg)	35	40 – 60	40 – 60
B ₁ (mg)	0,7	0,8	1,2
B ₂ (mg)	0,8	1,0	1,4
B ₆ (mg)	0,8	1,4	1,6
PP (mg)	9,0	12	14
Acid pantotenic (mg)	3,0	4 – 7	7 – 10
B ₁₂ (μg)	1,0	2,0	2,0
Acid folic (μg)	100	300	300
Biotină (μg)	50 – 90	50 – 90	50 – 90

* Gregory, 1996.

Tabelul 4.8

Aportul zilnic de vitamine recomandat adolescenților și adulților

Vitamina	13 – 19 ani		Adulți	
	băieți	fete	bărbați	femei
A (U.I.)	3330	2670	3330	2670
D (U.I.)	400	400	400	400
E (mg)	14 – 18	12 – 15	14 – 18	12 – 15
K (μg)	50 – 100	50 – 100	70 – 140	70 – 140
C (mg)	60 – 100	60 – 100	60 – 100	60 – 100
B ₁ (mg)	1,3 – 1,5	1,3 – 1,5	1,3 – 1,5	1,3 – 1,5
B ₂ (mg)	1,8	1,5	1,8	1,2 – 1,5
B ₆ (mg)	2,0 – 2,2	2,0 – 2,2	2,2 – 2,4	2,0
PP (mg)	15 – 18	15 – 18	18	15
Acid pantotenic(mg)	7 – 10	7 – 10	7 – 10	7 – 10
B ₁₂ (μg)	3,0	3,0	3,0	3,0
Acid folic (μg)	400	400	400	400
Biotină (μg)	100 – 300	100 – 300	100 – 300	100 – 300

* Gregory, 1996 (citat de Rowe et al., 2009).

Datele din literatura de specialitate sunt încă insuficiente în ceea ce privește aportul zilnic necesar de vitamine pentru vârsta a treia. Se admite faptul că, în cazul în care aceștia nu prezintă afecțiuni patologice deosebite, necesarul zilnic este identic sau ușor crescut față de cel recomandat adulților (Wilkinson et al., 2000). În perioada de sarcină, însă, viitoarele mame au nevoie de un aport vitaminic mult mai mare ce poate fi aproximativ dublu la unele vitamine (A, D, PP) sau de aproape 1,5 ori mai mare (toate celelalte vitamine).

5. VITAMINOTERAPIA

5.1. Vitaminele și interacțiunile medicamentoase

Numeroase preparate farmaceutice manifestă unele efecte secundare printre care se numără și inducerea de carențe vitaminice, probabilitatea apariției hipo- și avitaminozelor depinzând de durata tratamentului și de modul de interacțiune a medicamentelor cu vitaminele (*Schumann, 1999*). În literatură există încercări de clasificare a modalităților prin care au loc aceste interacțiuni:

- unele preparate medicamentoase sunt analogi structurali ai unor vitamine și se comportă ca inhibitori competitivi în metabolismul lor normal; efectul lor poate fi imediat;
- alte preparate leagă direct unele vitamine sau derivații activi ai acestora formând complecși stabili, dar inactivi biologic; în acest mod acționează marea majoritate a antivitaminelor;
- o altă categorie de medicamente pot manifesta o acțiune nespecifică când are loc, de exemplu, activarea unor enzime microsomale din hepatocite. Din această cauză este accelerat catabolismul vitaminelor sau a precursorilor lor (*Fleisher, 1980*).

5.1.1. Tratamentul antituberculos

a. Piridoxina și acidul nicotinic

Imediat după debutul tratamentului cu hidrazida izonicotinică (HIN) apar dereglări neurologice, în principal neuropatii periferice, datorită acțiunii antivitaminice a HIN. Neurotoxicitatea HIN se manifestă foarte repede deoarece viteza de acetilare a acestui medicament este foarte mică. În toate cazurile, apariția simptomelor hipovitaminozei poate fi prevenită prin administrarea concomitentă a vitaminei B₆ fără ca tratamentul antituberculos să fie afectat.

Apariția simptomelor de hipovitaminoză este datorată capacității hidrazidei izonicotinice de a reacționa cu piridoxalfosfatul cu formarea unui complex inactiv, precum și datorită faptului că HIN inhibă activitatea enzimelor piridoxalfosfat-dependente.

După tratamente de lungă durată pot să apară și simptome caracteristice carenței în acid nicotinic datorate inhibiției biosintezei sale, mai exact, datorită inhibiției activității *kinureninazei*.

O suplimentare a aportului zilnic de piridoxină cu 100 – 200 mg este suficientă pentru prevenirea carenței vitaminice B₆. Mulți specialiști recomandă asocierea vitaminei B₆ cu niacina deoarece unele simptome carențiale ale acidului nicotinic pot fi potențate de piridoxină.

Literatura de specialitate mai raportează cazuri de afecțiuni neurologice ce apar în urma tratamentului cu cicloserină. Aceasta formează cu vitamina B₆ un complex inactiv biologic. Prevenirea hipovitaminozei se face prin vitaminoterapie ca în cazul tratamentului cu HIN.

b. Vitamina D

Metabolismul vitaminelor D este, de asemenea, perturbat în timpul tratamentului antituberculos. Astfel, rifampicina determină o scădere de peste 50% a concentrației de 25(OH)D₃.

Acest lucru se explică prin activarea enzimelor hepatice de către acest antibiotic. Această acțiune nu este deloc neglijabilă cu atât mai mult cu cât, deseori, rifampicina este asociată cu hidrazida izonicotinică în tratamentul antituberculos. De aceea, în tratamentul complet se observă scăderea calcemiei, a concentrației de 1,25(OH)₂D₃ și mai târziu a derivatului monohidroxilat 25(OH)D₃ în timp ce concentrația parathormonului crește după doar două săptămâni de tratament, mecanismele care stau la baza acestui fenomen fiind încă neelucidate.

5.1.2. Tratamentul anticonvulsivant

a. Acidul folic

În urma tratamentelor anticonvulsivante prelungite, în special cu difenilhidantoină, apar dereglări neurologice, anemii macrocitare și uneori megaloblastice etc. ce coincid cu scăderea folatului seric și globular. Se pare că starea de hipovitaminoză s-ar datora malabsorbției induse a acidului folic, unii autori indicând un efect metabolic direct. Carența este prevenită prin administrarea unei doze suplimentare de acid folic de 0,1 – 1,0 mg/zi.

b. Vitamina D

În cursul tratamentului anticonvulsivant s-au mai observat hipocalcemii, rahitism sau osteomalacie și alte simptome ale avitaminozei D. În acest caz, efectul medicamentelor anticonvulsivante pare a fi datorat unei activări a

enzimelor microsomale din hepatocite, în special a oxidazelor responsabile de degradarea accelerată a $25(\text{OH})\text{D}_3$ cu formarea unor derivați polari inactivi. Incidența cea mai ridicată a acestor simptome s-a observat în urma administrării prelungite de difenilhidantoină și derivați ai acesteia, piramidon și fenobarbital.

c. Utilizarea antagoniștilor acidului folic în tratamentul cancerului, malariei și ca agenți antibacterieni

Cei mai cunoscuți agenți anticancerigeni sunt metotrexatul și aminopterina, ambii fiind analogi structurali ai acidului folic utilizați în chimioterapia anticanceroasă. Se pare că acțiunea lor principală constă în inhibiția competitivă a *dihidrofolat-reductazei*. Această enzimă posedă o afinitate foarte înaltă față de metotrexat.

Unii agenți folosiți în tratamentul malariei (diamino-pirimidinele) inhibă, de asemenea, *dihidrofolat-reductaza*. Selectivitatea tratamentului se bazează pe diferența de afinitate dintre enzima parazitului și a celulei umane față de acești produși.

Inhibarea activității *dihidrofolat-reductazei* parazitare poate fi realizată cu doze ale medicamentului de 1000 de ori mai mici față de cele necesare obținerii aceluiași efect la celula umană. Cu toate acestea, selectivitatea este relativă din care cauză s-au înregistrat și accidente grave în asemenea tratamente.

Unii derivați ai agenților antimalarici au acțiune antibacteriană. De exemplu, asocierea trimethoprim-sulfametazol inhibă biosinteza bacteriană de acid folic (trimethoprim este o diaminopirimidină ce inhibă puternic *dihidrofolat-reductazele* bacteriene). Utilizarea acestui medicament, ca și a altor diaminopirimidine, asociată cu malnutriția grăbește, apariția simptomelor carentiale de acid folic. Aceleași efecte se observă și la administrarea salazopirinei (salicilazo-sulfapiridină).

d. Tratamentul antiparkinsonian

Eficacitatea tratamentului bolii Parkinson cu DOPA poate fi diminuată prin suplimentare cu piridoxină. Această scădere a eficacității se explică prin formarea unui complex între L-DOPA și piridoxină lipsit de activitate biologică.

Este posibilă și o activare a decarboxilării la nivel periferic a dihidrofenilalaninei de către enzimele piridoxalfosfat-dependente. În asemenea situații efectul inhibitor al piridoxinei este prevenit prin utilizarea concomitentă a carbidopei și benserazidei.

e. Anticoncepționalele estroprogestative

Utilizarea de contraceptive orale afectează incontestabil metabolismul vitaminelor, fapt demonstrat de modificări ale concentrației plasmatice a acestora sau de creșterea eliminărilor pe cale renală. Interpretarea acestor modificări este complicată și de fluctuațiile ce au loc pe parcursul ciclului menstrual.

Datele statistice acumulate până în prezent nu permit diferențierea ușoară a adaptării biochimice induse de anticoncepționale de alte eventuale dereglări metabolice capabile să modifice cerințele organismului în vitamine.

Eliminarea pe cale renală a acidului kinurenic și xanturenic după o „încărcare” a organismului cu triptofan, crește considerabil la femeile ce utilizează contraceptive orale. În afară de hipovitaminoza B₆, această modificare reflectă o activare a biosintezei acidului nicotinic. Aceasta înseamnă că anticoncepționalele determină și o reducere a necesarului de niacină.

Utilizarea contraceptivelor orale influențează și metabolismul altor vitamine. Se observă astfel o modificare a distribuției retinolului în organism și o scădere a concentrației leucocitare și plachetare a vitaminei C, în timp ce necesitățile zilnice de tiamină și riboflavină par să nu se modifice.

f. Alte aspecte farmacologice

D-penicilamina, folosită în tratamentul bolii Wilson și a poliartritelor reumatoide formează cu vitamina B₆ un complex inactiv. Dat fiind faptul că acest efect este limitat în timp, el nu necesită o suplimentare a aportului vitaminic. Recent, au fost descrise sindroame hemoragice cauzate de hipovitaminoza K la pacienți tratați cu cefalosporine, care cedează la administrarea vitaminei K injectabilă. În fine, neomicina administrată *per os* determină malabsorbția intestinală a multor vitamine, în special B₁₂.

Deși dieta echilibrată, cu un conținut optim de vitamine și microelemente reprezintă modalitatea cea mai sigură de prevenire a bolilor carentiale, în hipo- și avitaminoză este obligatorie instituirea vitaminoterapiei.

Numeroase cercetări experimentale au demonstrat faptul că, în asemenea situații, nu este recomandată administrarea unei singure vitamine (în funcție de avitaminoza instalată) datorită faptului că în organismul uman au loc și numeroase interacțiuni vitaminice în sensul că o anumită vitamină poate influența într-un sens sau altul necesitățile zilnice ale altor vitamine.

Din aceste motive au fost efectuate numeroase cercetări în vederea evidențierii acțiunilor pozitive și/sau negative pe care fiecare din vitaminele cunoscute în prezent le manifestă asupra necesităților zilnice ale organismului uman în celelalte vitamine (tabelul 5.1). Scopul acestor studii l-a constituit realizarea de rețete optime în vitaminoterapie.

Tabelul 5.1

Principalele interacțiuni între vitamine
și respectiv, microelemente întâlnite în vitaminoterapie*

Interacțiune negativă	Interacțiune pozitivă
Vitamina A ◀ ▶ Vitamina B ₁₂	Vitamina A ▶ ◀ Vitamina E
Vitamina A ◀ ▶ Vitamina K	Vitamina B ₂ ▶ ◀ Vitamina B ₆
Vitamina B ₃ ◀ ▶ Vitamina B ₁₂	Vitamina B ₂ ▶ ◀ Vitamina B ₉
Vitamina B ₁₂ ◀ ▶ Vitamina B ₁	Vitamina B ₂ ▶ ◀ Vitamina K
Vitamina C ◀ ▶ Vitamina B ₁₂	Vitamina B ₁₂ ▶ ◀ Vitamina B ₅
Vitamina E ◀ ▶ Vitamina K	Vitamina B ₁₂ ▶ ◀ Vitamina B ₉
Vitamina B ₉ ◀ ▶ Zinc	Vitamina C ▶ ◀ Vitamina E
Vitamina C ◀ ▶ Cupru	Vitamina B ₆ ▶ ◀ Calciu
Vitamina E ◀ ▶ Fier	Vitamina D ▶ ◀ Calciu
Cupru ◀ ▶ Vitamina B ₅	Vitamina K ▶ ◀ Calciu
Cupru ◀ ▶ Vitamina B ₁₂	Calciu ▶ ◀ Vitamina B ₁₂
Fier ◀ ▶ Vitamina B ₁₂	Fier ▶ ◀ Vitamina B ₃
Mangan ◀ ▶ Vitamina B ₁₂	Seleniu ▶ ◀ Vitamina E
Calciu ◀ ▶ Fier	Zinc ▶ ◀ Mangan
Calciu ◀ ▶ Mangan	
Calciu ◀ ▶ Zinc	
Fier ◀ ▶ Crom	
Fier ◀ ▶ Magneziu	
Fier ◀ ▶ Mangan	
Fier ◀ ▶ Zinc	
Mangan ◀ ▶ Cupru	
Zinc ◀ ▶ Crom	
Zinc ◀ ▶ Cupru	

*Kolotilova et al., 1976.

5.2. Vitaminele și cancerul

Necesitatea prevenirii bolilor mai frecvente și mai grave reclamă o analiză completă a factorilor de mediu capabili să provoace sau să faciliteze evoluția acestora. Printre aceștia au fost identificați numeroși factori cancerigeni, care pot fi clasificați în factori fizici (radiații ionizante), chimici (derivați ai benzenului, gudroanele), virali (toxine ale speciei *Aspergillus flavus*). În afară de aceste tipuri de cancerogeneză, s-au constatat diferențe

mari în ceea ce privește incidența diferitelor tipuri de cancer între diferite regiuni ale planetei. Acest lucru a determinat demararea cercetărilor asupra factorilor ce pot explica aceste deficiențe (*Franceschi et al.*, 2000).

Printre aceștia, alimentația depinde direct de condițiile socio-economice și de modul de viață ce pot fi implicate, eventual, în apariția cancerului. S-a observat astfel faptul că un consum sporit de fibre vegetale diminuează considerabil incidența cancerului de colon (*Wactawski-Wende et al.*, 2006). Pe de altă parte, regimurile alimentare bogate în grăsimi și colesterol pot avea o anumită legătură cu diferite tipuri de cancer digestiv sau chiar de sân.

Rezultatele epidemiologice obținute sunt interpretate cu dificultate deoarece produsele consumate nu sunt pure, adică alimentele vegetale nu conțin numai fibre, iar grăsimile animale foarte rar sunt consumate fără a fi asociate cu alte alimente.

În masa totală a substanțelor nutritive din alimente vitaminele reprezintă o proporție infimă, dar importanța lor biologică este uriașă. Numeroase studii și observații clinice au arătat existența unor corelații între cantitatea de vitamine ingerate și incidența cancerului (*Negri et al.*, 2000). Astfel, s-a observat că incidența cancerului de vezică, a tractului digestiv sau de sân este invers proporțională cu consumul de vitamină A.

Rezultate neconcludente au fost obținute în studiile privind relația dintre consumul de niacină și vitamină C și incidența cancerului. Aceste studii confirmă, încă o dată, prudența de care trebuie să dăm dovadă în elaborarea oricărei relații cauză-efect. Studiile în acest domeniu sunt numeroase și chiar dacă rezultatele sunt contradictorii se poate afirma cu certitudine că un aport normal în vitamine reduce considerabil incidența cancerului (*Gensler et al.*, 1999).

Cele mai concludente rezultate au fost obținute în utilizarea vitaminei A în tratamentul leziunilor precanceroase și canceroase. S-a demonstrat astfel că etretinatul reduce semnificativ incidența metaplaziei bronhice a fumătorilor, iar acidul 13-*cis*-retinoic este eficient în tratamentul unor micoze fungoide. Unele epiteliome și chiar metastaze cutanate ale melanomului au răspuns favorabil la acest tratament.

Vitamina A reduce riscul apariției cancerului prin faptul că este implicată în procesul de diferențiere celulară, ceea ce justifică utilizarea sa în profilaxia bolilor maligne. S-a observat că la japonezii și norvegienii care consumă, prin tradiție, alimente cu un conținut bogat în β -caroten, incidența îmbolnăvirilor de cancer pulmonar, de colon, de prostată și de col uterin este mai scăzută. În cele mai multe cazuri, alimentele consumate conțin și substanțe poluante nefiind ideale ca surse de vitamine.

În morcovi, de exemplu, se găsesc adesea cantități mai mari de cadmiu și nitrați decât de β -caroten, excepție făcând doar plantele cultivate după metode ecologice. De aceea este util un aport de β -caroten pur din suplimente alimentare (Hennekens et al., 1996).

Metaboliții retinolului sunt mult mai activi din punct de vedere biologic decât retinolul în sine. Printre aceștia se numără retinalul cu importanță asupra vederii și reproducerii și acizii retinoici cu importanță în proliferarea celulară, diferențiere și funcția imună. Principalii acizi retinoici sunt acidul all-*trans*-retinoic (ATRA) și acidul 9-*cis*-retinoic. Primul a fost omologat ca și medicament pentru o serie de tipuri de cancer (Boik, 2001).

Retinil-esterii sunt studiați cu scopul introducerii lor în terapia cancerului din mai multe motive:

- sunt prezenți *in vivo* în concentrații mai mari decât ATRA. În plus, concentrația lor în plasmă este mărită prin administrarea pe cale orală. În mod contrar, la administrarea de ATRA, biodisponibilitatea sa tinde să scadă o dată cu administrarea repetată deoarece sunt activate enzimele cu rol în dezintoxicare;

- celulele canceroase, cum ar fi unele celule leucemice, prezintă mecanisme specifice de captare a retinil-esterilor în chilomicroni;

- la unele linii celulare, retinil-esterii sunt cel puțin la fel de puternici ca ATRA în inhibarea proliferării;

- prezintă o probabilitate mai mică de a cauza efecte secundare decât ATRA.

În ceea ce privește β -carotenul, precursorul vitaminei A, cercetările au dat rezultate contradictorii. Deși cantități crescute de β -caroten provenind din alimentație tind să fie asociate cu un risc scăzut de cancer, se pare că suplimentele cu β -caroten ar putea mări riscul de cancer, mai ales la fumători (Albanes et al., 1995) și la persoanele expuse la azbest (Omenn et al., 1994). Mecanismul prin care aceasta are loc nu este încă pe deplin elucidat. O explicație ar putea fi dată de efectul pe care β -carotenul îl are asupra metabolismului substanțelor cancerigene sau de producerea de radicali liberi de către β -carotenul oxidat. Până la elucidarea deplină a acestor mecanisme, cercetătorii recomandă evitarea consumului de suplimente cu β -caroten.

Studii epidemiologice au evidențiat faptul că nivelul crescut de β -caroten în plasmă este asociat cu un risc redus de cancer epitelial (Mayne et al., 1991), bucal, faringian (Zheng et al., 1993), pulmonar (Comstock, 1991) și cu până la două treimi mai mic de cancer cervical (Batieha et al., 1993).

În ceea ce privește α -carotenul, s-a dovedit faptul că poate prezenta o acțiune antitumorală mai puternică decât β -carotenul în cazurile de cancer de piele, plămâni, ficat și colon (Murakoshi et al., 1992).

În același timp, unii autori (Le Marchand et al., 1993) au evidențiat rolul anticancerigen al luteinei, care este forma dihidroxi a α -carotenului și care se întâlnește într-o gamă largă de legume (spanac, dovleac) și fructe (mango, papaya, piersici, prune, portocale). Un studiu realizat în insulele din Oceanul Pacific a evidențiat faptul că persoanele care consumă mari cantități dintr-o combinație de α -, β -caroten și luteină prezintă un risc foarte scăzut de cancer pulmonar.

Efectele benefice ale zeatinei (forma dihidroxi a β -carotenului) întâlnită într-o serie de plante printre care și porumb, au fost evidențiate abia în ultimii ani, de aceea mecanismul de acțiune antitumorală a acestei substanțe nu este încă total elucidat. Se pare însă că este extrem de eficientă în cazuri de cancer de ficat și în prevenirea metastazelor (Napoli et al., 2006).

Licopenul este introdus în organism o dată cu alimente ca tomatele și produsele preparate din tomate. Un studiu realizat în SUA indică o reducere cu 50% a mortalității datorate oricărui tip de cancer la consumatorii uzuali de roșii (Colditz et al., 1985). Alte studii evidențiază o inversă proporționalitate între consumul intens de licopen și incidența cancerului de prostată, sân, plămâni, piele și colon (Nagasawa et al., 1995).

Criptoxantina se găsește în fructe cum ar fi portocalele și este unul dintre principalii carotenoizi detectabili în sângele uman. În experimente realizate pe șoareci și șobolani, această substanță s-a dovedit că inhibă dezvoltarea cancerului de piele și colon (Napoli et al., 2006).

Pe lângă substanțele de natură carotenoidică de mai sus, mai există și altele a căror acțiune pare a fi promițătoare în terapia cancerului. Printre acestea se numără fucoxantina (principalul carotenoid din organismele marine), astaxantina, capsantina, crocetina și fitoenul, ultimul cu o activitate antioxidantă puternică (Napoli et al., 2006).

Problema utilizării vitaminei C în tratamentul adenocarcinoamelor digestive se pare că începe să se clarifice. În ultimul timp, cercetări efectuate în mai multe clinici din lume, au arătat că doze mari de acid ascorbic au efect asupra evoluției unor tipuri de cancer.

Radicalii liberi induc diferite modificări la nivel celular (printre care peroxidarea lipidică, alterarea ADN-ului și inactivarea unor proteine), fapt ce ar putea fi responsabil de apariția unor boli degenerative cum ar fi cancerul, afecțiunile cardiovasculare și bolile neurodegenerative. Aceasta

este o dovadă irefutabilă a unei inverse proporționalități între o dietă bogată în antioxidanți și incidența bolilor.

Vitamina C este unul dintre cei mai cunoscuți antioxidanți din fructe și legume și nu prezintă toxicitate la doze mai mari decât necesarul zilnic de 60 mg.

În 1997, experți de la Institutul American de Cercetare a Cancerului au indicat faptul că vitamina C poate reduce riscul de cancer cervical, de stomac, gură, faringe, esofag, plămâni și pancreas.

Vitamina C este considerată, în primul rând, un agent chemopreventiv. Ea protejează celula de stresul oxidativ prin neutralizarea radicalilor liberi și a reacțiilor de peroxidare lipidică ce pot dăuna ADN-ului. Alte mecanisme de acțiune sunt stimularea funcției imune, inhibarea formării de nitrozamine și blocarea activării metabolice a unor substanțe cu potențial cancerigen.

Carcinogenitatea stres-ului oxidativ este atribuită genotoxicității speciilor reactive de oxigen și de azot care induc cancerul prin diferite procese celulare: inflamație, inhibarea comunicării intercelulare prin joncțiuni gap și activarea unor metaloproteineze.

Există date potrivit cărora ROS (*reactive oxygen species*) sunt implicate în inflamațiile cronice și cancer. Generarea stres-ului oxidativ este o parte integrantă a răspunsului inflamator asociat cu promoția tumorală. Mai multe studii (Feiz and Mobarhan, 2002) au evidențiat faptul că tumorile canceroase gastrice sunt o consecință a inflamării cronice, iar vitamina C a avut efectul de atenuare a bolii prin reducerea inflamației cauzată de ROS. Pe de altă parte, rolul protector al vitaminei C ar putea fi dat, în această situație, și de împiedicarea formării nitroz-aminelor.

De asemenea, alte studii au arătat faptul că vitamina C este capabilă să inactiveze factorul nuclear NF-kB în celulele endoteliale în timpul procesului inflamator, proces independent de potențialul său antioxidant (Bowie and O'Neill, 2000).

Comunicarea intercelulară prin joncțiuni gap este esențială pentru menținerea homeostaziei prin modularea proliferării celulare și a diferențierii. Inhibarea acestui tip de comunicare este relaționată cu apariția cancerului. Printre substanțele capabile să inhibe joncțiunile se numără peroxidul de hidrogen și fenazin-metosulfatul. Unele studii susțin chiar faptul că unii antioxidanți cum ar fi acidul galic și epigallocatechin-galatul (din ceaiul verde) pot genera ROS care inhibă joncțiunile (Napoli et al., 2006).

În apariția tumorii, precum și în invazivitate și metastazare, un rol important revine metaloproteinazelor matriceale, o familie de endopeptidaze cu zinc care pot degrada componentii majori ai matricei extracelulare. Matricea extracelulară conține o serie de proteine și proteoglicani care

conferă integritate structurală țesuturilor și joacă un rol critic în creșterea celulară, diferențiere, supraviețuire și motilitate.

Din acest motiv, metaloproteinele reprezintă o nouă țintă pentru chemoprevenția noncitotoxică. Studiile (Pfeffer *et al.*, 1998) au arătat faptul că vitamina C acționează la nivel transcripțional pentru a reduce expresia unor metaloproteine. De asemenea, ea contribuie la menținerea integrității matricei extracelulare prin inhibarea activității hialuronidazei și β -glucuronidazei și stimularea sintezei de collagen.

Rezultatele cercetărilor *in vitro* asupra importanței vitaminei C în terapia cancerului sunt controversate. Majoritatea studiilor au evidențiat faptul că, la concentrații mari, vitamina C poate inhiba proliferarea celulelor canceroase datorită capacității sale antioxidante (Leung *et al.*, 1993). Alte studii, însă, au indicat faptul că, în doze mici, aceasta poate stimula proliferarea unor linii celulare (Alcain *et al.*, 1990).

Studiile *in vivo* au fost, de asemenea, controversate. Pe de o parte, unele indică faptul că vitamina C singură sau în combinație cu cuprul poate produce un efect antitumoral (Leung *et al.*, 1992), iar pe de altă parte, alți autori (Schwartz *et al.*, 1993) evidențiază chiar o promovare a proliferării celulare și a metastazării în cazul administrării doar de vitamina C.

Cercetările realizate pe pacienți umani au adus, de asemenea, rezultate contradictorii. Unele dintre acestea indică prelungirea supraviețuirii bolnavilor de cancer în fază terminală (Cameron *et al.*, 1975), pe când altele cu evidențiat exact contrariul (Cameron and Campbell, 1991).

Se pare că aceste contradicții apar din faptul că, în anumite condiții, vitamina C poate prezenta o activitate pro-oxidantă, mediată de radicalul liber al vitaminei C care ionizează în soluție cu formarea ascorbatului. Ascorbatul poate dona un atom de hidrogen pentru a neutraliza un radical liber, devenind el însuși un radical liber. Radicalul liber al ascorbatului poate dona, la rândul lui, un electron, devenind vitamina C oxidată sau dehidroascorbatul. *In vivo*, vitamina C se găsește sub ultimele trei forme. Aproape întreaga cantitate de vitamină C extra- și intracelulară este sub formă redusă. Dehidroascorbatul reprezintă doar 8% din concentrația totală de vitamină C (Koshiishi and Imanari, 1997). Deși în condiții de stres oxidativ este produsă o mare cantitate, el este rapid degradat sau preluat de celule unde este convertit în forma sa redusă. Cantități mari de ascorbat se regăsesc în celulele sistemului imunitar.

Radicalul liber al ascorbatului are o acțiune blândă comparativ cu speciile puternic reactive de oxigen. De aceea este mai puțin probabil să producă alterări la nivelul proteinelor și ADN-ului.

Stimularea sau inhibarea proliferării celulare de către vitamina C depinde de un număr mare de factori printre care de concentrația ascorbatului și a radicalilor liberi din celulă, de caracteristicile celulei și de ionii metalici prezenți (Boik, 2001).

Radicalul liber al ascorbatului (AFR, *ascorbate free radical*) este produs atunci când ascorbatul donează un atom de hidrogen unui alt compus. Spre exemplu, vitamina C poate reduce Vitamina E cu obținerea de AFR și de vitamină E redusă. Astfel, ascorbatul poate menține vitamina E în forma sa de antioxidant capabil să protejeze celula.

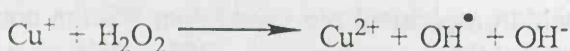
O altă reacție importantă la care participă vitamina C este reducerea fierului și cuprului. Această reacție este importantă din două motive: produce mai mult AFR și produce fier și cupru redus care pot reacționa în alte moduri. Spre exemplu, când cuprul se află în soluție împreună cu ascorbatul, cuprul primește un electron, iar ascorbatul pierde un electron transformându-se în AFR. Acesta, deși nu este dăunător în mod particular, poate participa la producerea altor radicali liberi mai periculoși. Acest proces debutează cu producerea de peroxid de hidrogen. Ascorbatul, în prezența cuprului, poate reacționa cu oxigenul molecular pentru a produce radicalul superoxid.



Apoi, ascorbatul și radicalul superoxid pot reacționa, formând peroxid de hidrogen și mai mult AFR.



Într-o manieră similară, AFR poate reacționa cu superoxidul, formând ascorbat și peroxid de hidrogen. Peroxidul de hidrogen nu este un radical liber, dar este considerat o specie reactivă de oxigen deoarece este ușor convertit în radicali liberi. El poate oxida cuprul, formând radicalul hidroxil liber conform reacției Fenton:



Astfel, în prezența oxigenului și a cuprului sau fierului, vitamina C poate produce peroxid de hidrogen și radicali hidroxil. Din acest motiv, s-ar putea crede că vitamina C este periculoasă pentru organismele vii. Însă organismul limitează concentrațiile de vitamină C, ceea ce îi limitează și pericolozitatea. Pe de altă parte, cuprul și fierul nu se găsesc în condiții normale în stare liberă, deci nu pot acționa ca și catalizatori, iar în organism

există și enzime care degradează speciile reactive ale oxigenului, spre exemplu catalaza care descompune apa oxigenată în apă și oxigen.

Deși radicalii hidroxil sunt, probabil, implicați în potențialul antitumoral al vitaminei C, întregul proces nu este încă pe deplin cunoscut. S-a constatat faptul că substanțele cu rol de neutralizare a radicalilor hidroxil *in vivo* nu reduc citotoxicitatea vitaminei C (Amano et al., 1998). O teorie este aceea că, printr-o serie de reacții ce implică formarea complexelor între ionii de cupru și ADN, radicalul hidroxil este produs eventual direct la nivelul ADN-ului în prezența vitaminei C. Astfel acțiunea sa poate fi rapidă, nelăsând suficient timp substanțelor neutralizatoare să acționeze.

Faptul că rezultatele cercetărilor asupra potențialului vitaminei C au fost contradictorii se datorează, în primul rând, modalității de tratament (cu acid ascorbic în formă uscată, sub formă de soluție sau în combinație cu diferite metale) producerea de AFR în organism diferind, astfel, de la caz la caz. S-a observat faptul că, din toate formele sale, vitamina C sub formă uscată produce cea mai mică cantitate de AFR și cel mai mic efect antitumoral (Tsao, 1991).

În ciuda tuturor acestor efecte benefice, cercetătorii sugerează utilizarea cu precauție a vitaminei C deoarece ar putea stimula dezvoltarea tumorală. AFR și alți radicali pot stimula proliferarea prin transportul transmembranar de electroni. Celulele transformă AFR în ascorbat prin transportul electronilor de la nivel intracelular la nivelul extracelular. Mecanismul nu este încă pe deplin cunoscut, însă se presupune că proliferarea celulară se datorează creșterii pH-ului celular.

De asemenea, o altă cale de a facilita progresia cancerului este datorată capacității vitaminei C de a facilita sinteza de collagen, substanță esențială procesului de angiogeneză.

O descoperire remarcabilă a fost modul de stocare a vitaminei C în celulele canceroase pentru a fi utilizată mai apoi pentru supraviețuirea sa datorită capacității antioxidante. Se pare că aceste celule preiau dehidroascorbatul din mediul extracelular prin transportorii de glucoză (acidul ascorbic având o structură asemănătoare glucozei). Celulele canceroase pot înmagazina, astfel, până la de două ori mai multă vitamina C decât țesuturile înconjurătoare (Boik, 2001).

Terapia pro-oxidantă (producerea de AFR care atacă celulele canceroase) poate avea efecte benefice pe termen scurt, dar pe termen lung poate produce efecte adverse. În primul rând, este puțin probabil să fie distruse toate celulele canceroase din organism, iar cele care supraviețuiesc stresului oxidativ pot fi determinate să dezvolte o serie de mutații genice care le pot transforma în celule mult mai agresive.

Există studii conform cărora, după administrarea de vitamina C, unii bolnavi de cancer au manifestat o îmbunătățire a stării de sănătate sau o fază de platou care a durat luni sau chiar ani, după care a avut loc o explozie a metastazelor. În plus, o terapie pro-oxidantă poate induce cancerul în țesuturile normale (Cameron, 1991).

Rolul vitaminei D în prevenirea cancerului este cunoscut de mai bine de 50 de ani. Deși expunerea excesivă la soare mărește riscul dezvoltării cancerului de piele, se pare că o expunere moderată poate fi corelată cu incidența scăzută a cancerului de prostată, sân și colon.

În ceea ce privește cancerul de colon se pare că persoanele de culoare (la care sinteza de vitamină D la nivelul pielii este deficitară) prezintă un risc de cancer de colon, precum și o rată a mortalității mai mare decât persoanele albe (Garland et al., 1999).

În cazurile de cancer mamar, nivele serice scăzute de vitamina D au fost corelate cu o progresie mai rapidă a bolii și un risc mai mare de metastază osoasă (Garland et al., 1990) Aceeași situație poate fi întâlnită și în cazurile de cancer de prostată (Ntais et al., 2003).

Un compus derivat de la vitamina D₃ este 1,25-dihidroxi-colecalciferolul [1,25-(OH)₂D₃]. Pe lângă rolul său binecunoscut în reglarea homeostaziei calciului, acest compus prezintă și efecte reglatoare puternice asupra creșterii și diferențierii celulare, acționând în diverse faze ale ciclului celular. Se crede că acționează prin legarea la diferiți receptori nucleari. Studiile au arătat faptul că 1,25-(OH)₂D₃ este capabil să inhibe invazia celulelor tumorale, metastaza și angiogeneza prin mecanisme care includ reglarea activității serin-proteinazelor și metalo-proteinazelor.

În ciuda multitudinii de roluri pe care le prezintă, studiile s-au axat pe potențialul său hipercalcemic asociat cu potențialul de agent antitumoral. Pentru a depăși această limitare, unii cercetători au dezvoltat o serie de analogi ai substanței tocmai pentru a separa activitatea antiproliferativă de cea hipercalcemică.

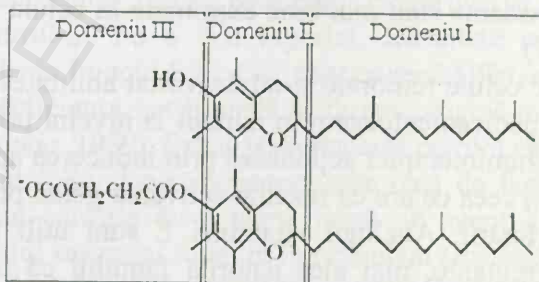
O altă limitare este dată de faptul că 1,25-(OH)₂D₃ acționează asupra celulelor canceroase la doze mai mari decât cele fiziologic normale, care ar putea deveni chiar toxice pentru organism. Un exemplu ar fi utilizarea substanței în tratamentul cancerului mamar, caz în care s-a constatat faptul că este capabil să reducă expresia receptorilor de estrogen, reducând astfel efectele proliferative ale acestui hormon. Aceasta se întâmplă, însă, la concentrații mai mari decât cele fiziologic normale (Stoica et al., 1999).

Actualmente există cel puțin 2000 de analogi denumiți deltanoizi disponibili pentru teste clinice legate de potențialul lor antitumoral. S-a demonstrat faptul că aceștia pot inhiba proliferarea multor tipuri de celule canceroase în cultură: de sân, prostată, piele, plămâni, colon, ovar, pancreas

etc. Deși rezultatul acțiunii lor este inducerea apoptozei, se pare că mecanismele prin care acționează diferă de la un tip de tumoră la altul. În plus, este nevoie de concentrații suprafizilogice pentru a obține un efect pronunțat. Din acest motiv, astăzi se studiază posibilitatea de a combina deltanoizii cu alte tratamente anticancer. Spre exemplu, ei pot fi combinați cu radiațiile ionizante și cu unii agenți chimioterapici cum ar fi adriamicina pentru a induce apoptoza celulelor de cancer mamar *in vitro* și *in vivo*.

Mai mult decât atât, se pare că, prin administrarea lor, celulele de cancer mamar și de prostată devin mai sensibile la acțiunea citostaticelor (Ahmed et al., 2002; Gewirtz et al., 2002). S-a constatat faptul că se pot obține rezultate remarcabile prin combinația între 1,25-(OH)₂D₃ și acidul all-trans-retinoic. Atât doar primul compus, cât și o combinație între cei doi pot determina inhibarea angiogenezei *in vitro* și la șoareci (Majewski et al., 1995). Asocierea 1,25-(OH)₂D₃ cu o serie de glucocorticoizi se pare că poate reduce efectele sale adverse (în principal hipercalcemia) și mări potențialul antitumoral (Yu et al., 1998).

Studiile asupra potențialului antitumoral al α -tocoferolului s-au datorat capacității sale și a unor derivați funcționali (printre care α -tocoferil-succinat) de a neutraliza speciile reactive ale oxigenului și azotului. În structura acestor compuși există trei domenii fundamentale: *domeniul I* (*domeniul hidrofob*) esențial pentru legarea la lipoproteinele membranare, *domeniul II* (*domeniul de semnalizare*) legat de căile de semnalizare și *domeniul III* (*domeniul funcțional*) care determină acțiunea specifică a compușilor. Astfel, gruparea hidroxil conferă vitaminei E potențial redox, iar succinatul conferă activitate proapoptotică α -tocoferil-succinatului (Napoli et al., 2006):



Domeniul funcțional	Domeniul de semnalizare	Domeniul hidrofob
responsabil de activitatea redox/apoptotică	afectează acțiunea protein-kinazei	mediator al legării la membrane

Se crede că α -tocoferolul inhibă carcinogeneza la nivelul transformării celulelor normale în celule maligne, în primul rând prin activitatea sa antioxidantă. În plus, mai poate inhiba formarea tumorilor printr-o serie de mecanisme alternative printre care inhibarea proliferării celulare, întreruperea ciclului celular, prevenirea angiogenezei și întărirea funcției imune.

Activitatea derivaților de α -tocoferol este dată de structura lor. Compuși cu un număr mic de grupări metil la nivelul domeniului de semnalizare nu prezintă activitate proapoptotică. Esterificarea grupării hidroxil cu acizi grași dicarboxilici a evidențiat faptul că α -tocoferil-maleatul și α -tocoferil-fumaratul au fost cele mai eficiente. α -Tocoferil-acetatul nu prezintă activitate apoptotică, iar înlăturarea domeniului hidrofob elimină, de asemenea, acest potențial.

În ceea ce privește α -tocoferil-succinatul, se pare că acesta este selectiv pentru celulele canceroase. Acest lucru se datorează faptului că este un acid slab. La pH-ul neutru al interstițiilor țesutului normal, aproximativ 98% din totalul de α -tocoferil-succinat este deprotonat, deci nu poate difuza în celule. În schimb, la nivelul interstițiilor tumorale, pH-ul este acid și, astfel, este protonată o cantitate de 10 sau chiar 15 ori mai mare. Prin urmare este captată o cantitate mai mare în celule (Kozin et al., 2001).

În plus, faptul că substanța atacă celulele tumorale și nu pe cele normale se poate explica prin rezistența crescută a celulelor normale la stresul oxidativ. Este demonstrat faptul că, în urma acțiunii α -tocoferil-succinatului, în celula canceroasă se produce o cantitate mare de specii reactive ale oxigenului, pe când în celula normală mult mai puțin. Se crede că enzimele antioxidante sunt mai bine exprimate în celula normală (Ottino and Duncan, 1997).

Numeroase celule tumorale și-au dezvoltat abilitatea de a contracara acțiunea terapiei medicamentoase prin mutații la nivelul principalelor gene. Numeroși agenți chimioterapici acționează prin inducerea apoptozei în urma alterării ADN-ului, ceea ce are ca rezultat activarea genei proapoptotice *p53* și inhibarea proliferării. Analogii vitaminei E sunt utili în tratarea unor cancere cu gene mutante, mai ales datorită faptului că utilizează o cale apoptotică mitocondrială. Unele cercetări indică faptul că α -tocoferil-succinatul este capabil să inducă apoptoza inclusiv în cazul în care genele proapoptotice sunt deficitare (Weber et al., 2002).

În ceea ce privește calea pe care o parcurg în organism acești compuși, aceasta este deosebit de importantă în cazul cancerului. Dacă sunt

ingerați ei vor fi ușor hidrolizați la nivelul intestinului. De aceea, se preferă administrarea intraperitoneală. Apoi, o dată ajunși în torrentul sanguin, se asociază cu o serie de lipoproteine care îi transportă la nivelul microvasculaturii neoplazice. Odată ajunși în vasele de sânge de la nivelul tumorii, α -tocoferil-succinatul migrează spre țesutul tumoral, declanșând apoptoza. Deoarece componenții sângelui și țesutul periferic reprezintă un sistem dinamic, este clar că există un schimb constant de molecule. Astfel, α -tocoferil-succinatul este treptat îndepărtat de la nivelul tumorii și legat de lipoproteine, ajungând în final în ficat. Aici este hidrolizat și, în funcție de cantitatea de proteine de legare a α -tocoferolului, reintră parțial în circulație sub formă de α -tocoferol. De aici se poate deduce faptul că, pe de o parte, α -tocoferil-succinatul suprimă cancerul și, pe de altă parte, este sursa unui compus redox-activ (*Brigeliuss-Flohe et al.*, 2002).

Acidul folic a fost recunoscut ca esențial pentru buna funcționare a organismului uman încă din 1930 când mai multe forme de anemie megaloblastică au fost asociate cu deficiența unui factor dietetic identificat mai târziu. Conexiunea între un aport scăzut de folat și cancer a fost cel mai dificil de realizat.

Carcinogeneza este un proces ce cuprinde mai multe etape. Mai întâi are loc o mutație sau un fenomen epigenetic care este urmat de o fază de creștere a instabilității genomice. Aceasta continuă până când mecanismele de control al creșterii nu mai au loc corespunzător. De aceea, orice proces care amplifică alterarea ADN-ului poate contribui la dezvoltarea cancerului. Deficiența de acid folic la eucariote cauzează tulburări genomice.

Un număr de studii preclinice au evidențiat rolul deficienței în folati în dezvoltarea cancerului. Totuși, potențialul cancerigen al deficienței cronice de acid tetrahidrofolc nu a fost raportat. Rezultate indirecte nu susțin ipoteza că deficiența în acid folic este cancerigenă (*Waters et al.*, 1988). Se crede, însă, că deficiența nutrițională și farmacologică nu sunt echivalente (*Borman and Branda*, 1989). Există presupunerea potrivit căreia legătura dintre deficiența de acid folic și carcinogeneză este dată de faptul că alterările la nivelul ADN-ului cauzate de o gamă largă de agenți cancerigeni pot fi potențate de nivelul scăzut al folatilor în organism (*Branda et al.*, 1998).

Datele epidemiologice sunt adesea singura cale de a stabili relația cauză-efect între un anumit factor și un anumit statut pato-fiziologic. În ceea ce privește acidul pteroil-glutamic, studiile epidemiologice au vizat, în general, o corelație între nivelul acestuia și incidența cancerului cu diferite localizări. În această privință există date sugestive despre o corelație inversă între nivelul folatului și frecvența unor tipuri de cancer (*Kim*, 1999). Cea

mai bine evidențiată corelație de acest tip este regăsită în cazurile de cancer de colon sau leucemie.

Studii relativ recente au arătat faptul că suplimentarea alimentației cu acid folic a redus într-o manieră dependentă de concentrație, incidența cancerului colo-rectal, la pacienți ce prezintă o inflamație cronică a colonului care predispune la cancer (*Lashner et al.*, 1989). Într-un studiu de anvergură (asupra a 47 931 pacienți) a fost constatată această corelație inversă între incidența cancerului și nivelul nutrițional al folatului. O situație similară a fost observată la fumătorii de sex masculin din grupa de vârstă 50 – 69 ani (*Giovannucci et al.*, 1995).

Un alt studiu care a evaluat timp de 14 ani un număr de 88 756 de femei a evidențiat doar o ușoară diminuare a riscului. Interesant este faptul că, după 15 ani, a fost observat un efect protector puternic (*Giovannucci et al.*, 1998). Efectul protector s-a demonstrat a fi mai mare la femeile a căror dietă a fost săracă în metionină, sugerând faptul că metilarea ADN-ului ar putea fi implicată.

În ceea ce privește leucemia la copii, cercetătorii susțin faptul că inițierea unui stadiu preleucemic are loc încă din perioada intrauterină și constă în anomalii la nivelul ADN-ului, manifestările apărând abia spre vârsta de 10 ani. Principala cauză a acestui fenomen este deficiența de acid pteroil-glutamic din alimentația mamelor (*Thompson et al.*, 2001).

Mai multe studii de anvergură au indicat, de asemenea, o proporționalitate inversă între cantitatea de folai ingerată și riscul apariției cancerului mamar (*Han et al.*, 2004).

Se știe faptul că instabilitatea genomică poate fi atât o cauză cât și un efect al cancerului. Deficiența severă de acid folic poate declanșa apoptoza, însă celulele care rămân intacte vor prezenta instabilitate genomică care se manifestă prin alterări cromozomiale (*Barclay et al.*, 1982).

Au fost propuse două mecanisme biochimice pentru a explica instabilitatea genomică datorată deficienței de folai. Primul mecanism presupune un metabolism neechilibrat al nucleotidelor, mai ales al dTTP, care poate duce la mutații punctiforme. Al doilea mecanism presupune o hipometilare a ADN-ului din cauza deficienței de donori de grupări metil (*Robertson and Jones*, 2000). Oncogenele, spre exemplu *c-myc* și *c-ras*, sunt adesea hipometilate, ceea ce conduce la supraexpresia lor (*Wainfan and Poirier*, 1992).

Deoarece acidul folic este necesar pentru sinteza *de novo* a purinelor, aportul său scăzut din alimentație conduce la modificarea conținutului de deoxinucleotide.

Deși numeroase studii susțin efectul pozitiv al suplimentelor de acid folic, în anumite cazuri dozele mai mari pot fi problematice (Campbell, 1996). Un potențial pericol este accelerarea creșterii tumorilor preexistente sub formă latentă, iar pe de altă parte un aport normal de acid folic poate scădea riscul de metastazare (Branda *et al.*, 1988).

Datele privind asocierea între aportul de acid folic și riscul de cancer de prostată sunt contradictorii. Astfel, a fost studiată evoluția a 643 de bărbați împărțiți în două grupuri cărora li s-a administrat acid folic sintetic și, respectiv, un *placebo*. Rezultatele au evidențiat faptul că probabilitatea de a fi diagnosticați cu cancer de prostată în următorii 10 ani a fost de 9,7% în cazul bărbaților cărora li s-a administrat acid folic comparativ cu doar 3,3% în grupul *placebo*. Interesant este faptul că sursele naturale de acid folic au produs un efect contrar (Figueiredo *et al.*, 2009).

În concluzie, majoritatea rezultatelor din literatura de specialitate relevă existența unei relații de inversă proporționalitate între nivelul scăzut de acid folic din alimentație și riscul crescut de carcinogeneză. Neconcordanța dintre rezultatele diferite ale unor studii derivă din faptul că efectul acidului folic depinde de mai mulți factori cum ar fi tipul animalului investigat, starea fiziologică a acestuia, tipul de tumoră, stadiul de evoluție al cancerului și de doză și perioada de administrare a acestei substanțe.

Studiile epidemiologice axate pe asocierea dintre folat și cancerul cervical, colo-rectal, pulmonar, esofagian și cerebral sugerează o asociere clară între nivelul scăzut de acid folic și evoluția primelor stadii ale procesului neoplazic, fapt demonstrat spre exemplu, de potențialul de inhibare a leziunilor cervicale și colo-rectale (Glynn and Albanes, 1994).

În concluzie, se poate afirma că unele vitamine pot avea un efect extrem de favorabil în prevenirea cancerului și au un efect pozitiv cert în tratarea leziunilor precanceroase.

PARTEA A II-A

BIOCHIMIA HORMONILOR

1. ROLUL HORMONILOR ÎN ORGANISMELE VII

Deși tendința actuală a unor ramuri ale biologiei o constituie aprofundarea mecanismelor moleculare ce stau la baza funcționării celulei vii, nu trebuie să neglijăm faptul că aceste mecanisme se integrează într-un tot unitar deoarece celulele, țesuturile și organele reprezintă părți componente ale organismului viu în ansamblul său și se află într-o strânsă interdependență și interacțiune (*Tamaș și Boitor, 1977*).

Iată de ce, cunoașterea hormonilor sub aspectul structurii lor chimice, rolului biologic și mecanismelor de acțiune este importantă nu numai din punct de vedere practic, în scopul profilaxiei și tratamentului unor disfuncții glandulare ci, mai ales, pentru înțelegerea globală a proceselor biochimice și fiziologice ce au loc în organismele vii.

Sistemul endocrin îndeplinește funcția majoră de legătură între sistemul nervos și celelalte sisteme de control, inclusiv cel ce acționează la nivel molecular. Așadar, sistemul endocrin face parte integrantă din edificiul sistemelor de reglare ce s-au dezvoltat în cursul evoluției și anume:

a) **sistemul nervos central (SNC)** al cărui rol constă în reglarea rapidă a interrelațiilor mediu extern – organism;

b) **sistemul endocrin** ce realizează o reglare mai lentă, dar continuă;

c) **sistemul imunitar** cu rol de apărare față de proteinele străine organismului în cauză.

1.1. Definiția și clasificarea hormonilor

Termenul de hormon este de origine greacă ($\alpha\rho\mu\epsilon\iota\nu = a\ excita$) și a fost introdus (*W. Bayliss & E. Starling, 1905*) pentru a desemna acele substanțe sintetizate în organism care au proprietatea de a stimula sau excita diferite organe, țesuturi sau procese biochimice și fiziologice.

La acea vreme, denumirea de *hormon* era justificată dacă ținem cont de faptul că nu se cunoșteau decât foarte puțini reprezentanți ai acestei clase

(secretina, adrenalina etc.) care manifestau acțiuni de excitare. Mai târziu, după descoperirea altor hormoni, s-a demonstrat faptul că acțiunea lor nu constă numai în stimularea diferitelor procese din organism ci, deseori ei le pot și inhiba. Cum însă termenul „hormon” a intrat deja în uz, el este folosit în continuare chiar dacă denumirea generică a acestor compuși nu concordă întotdeauna cu acțiunile lor.

Hormonii sunt definiți ca fiind substanțe organice specifice, sintetizate și secretate de către țesuturi glandulare specializate ce formează **glandele cu secreție internă** sau **glande endocrine** (gr. *ενδον* = interior, *κρῖνειν* = a secreta), care sunt deversate direct în sânge, fiind transportate de către acesta spre diferite organe și țesuturi numite **organe țintă**, asupra cărora își exercită acțiunea lor specifică (fig. 1.1).

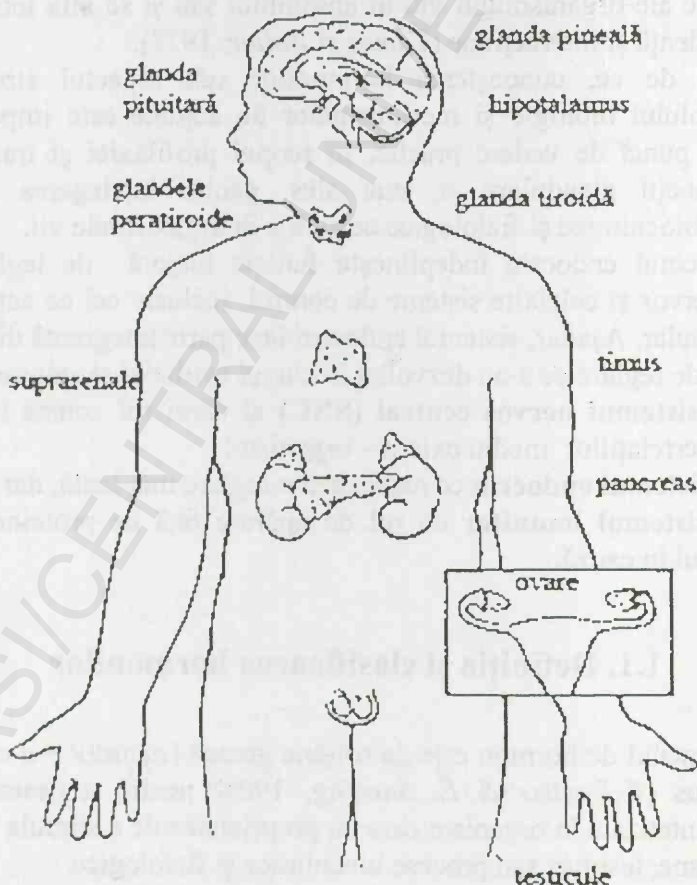


Figura 1.1. Principalele glande endocrine ale organismului uman
(Baulieu, 1978).

Hormonii, numiți și **mesageri** sau **reglatori chimici**, coordonează activitatea diferitelor părți ale organismului, acționând asupra celulelor ce compun țesuturile și organele respective. Acestea din urmă „răspund” în funcție de tipul lor, starea lor funcțională și nutrițională, vârstă etc., integrându-se în ansamblul controlului hormonal și nervos la care sunt supuse.

Receptorul este un element structural al celulei țintă care primește mesajul declanșat, reprezentând deci vectorul de transmisie între semnalul primit și primul răspuns. În cazul organismului uman, fiecare din cele aproximativ 10^{13} celule prezintă propriul lor sistem de reglare internă, iar hormonii realizează reglarea externă. Celulele dintr-un organism primesc compușii chimici necesari activității lor metabolice, iar pe cale umorală receptează semnalele necesare reglării acestor procese. Aceste două aspecte sunt interdependente, dat fiind faptul că mulți hormoni sunt direct implicați în reglarea metabolismului, contribuind la menținerea constantelor mediului intern (Hulme, 1990).

Ramura științei care se ocupă cu studiul structurii chimice, mecanismului de acțiune, rolului biologic și efectelor de hipo- și hipersecreție hormonală se numește **Endocrinologie**. Credem că este o datorie de onoare să amintim aici că primul tratat de endocrinologie din lume a fost publicat de savantul român C. I. Parhon.

Aspectele fundamentale ce privesc structura chimică, transportul, mecanismele de acțiune, rolul biologic, degradarea și eliminarea din organism a hormonilor reprezintă obiectul de studiu al **Endocrinologiei biochimice**. Efectele de hipo- și hipersecreție hormonală care reprezintă urmarea, deseori tardivă, a modificărilor biochimice cauzate de insuficiența sau excesul unuia sau mai multor hormoni, constituie obiectul de studiu al **Endocrinologiei medicale**.

Datorită perfecționării aparaturii de laborator și a tehnicilor de investigație clinică și paraclinică, în ultimul timp se observă o întrepătrundere din ce în ce mai mare a acestor două domenii ale endocrinologiei cu rezultate benefice pentru bolnavi, dată fiind posibilitatea diagnosticării precoce a diferitelor hipo- și hipersecreții glandulare.

Hormonii constituie o clasă de substanțe biologice active extrem de eterogenă din punctul de vedere al structurii lor chimice. Din această cauză, o clasificare judicioasă în funcție de acest criteriu este extrem de dificilă.

Astăzi se cunosc mai multe clasificări ale hormonilor în funcție de diferite criterii, cum ar fi structura chimică, glandele care îi secretă, mecanismul

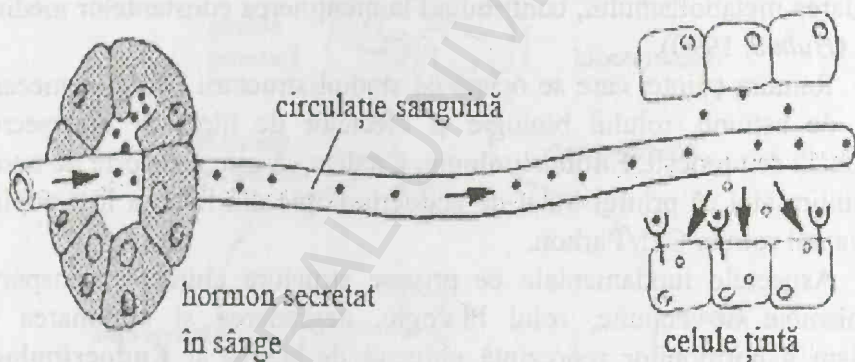
de acțiune etc. În funcție de originea lor, hormonii se împart în două clase principale: hormoni propriu-ziși și hormoni tisulari.

Hormonii propriu-ziși sunt sintetizați și secretați numai de către țesuturi specializate ale organismului animal, numite glande endocrine. Uneori, hormonii își exercită acțiunea în organul în care au fost sintetizați.

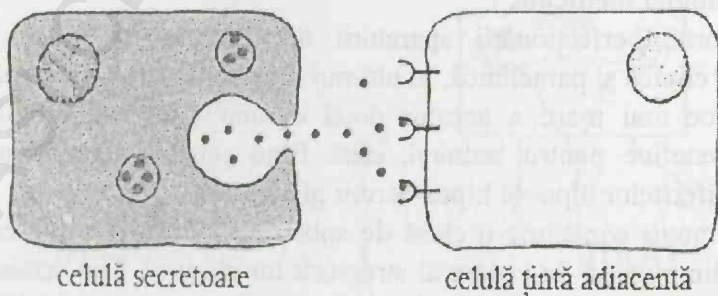
De cele mai multe ori însă ei sunt transportați de către sânge spre alte organe și țesuturi ale căror funcții biochimice și fiziologice le influențează.

Din punctul de vedere al comunicării dintre glanda endocrină și celula țintă, există trei posibilități de transmitere a mesajului endocrin (Baulieu, 1978):

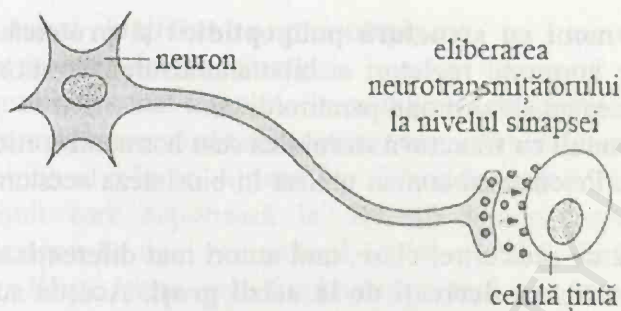
a) **comunicarea endocrină** are loc atunci când glanda endocrină secretă hormonul în sânge, acesta ajungând apoi la celula țintă prin circulația sanguină:



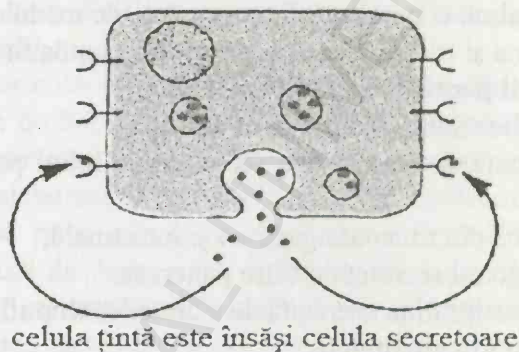
b) **comunicarea paracrină** se realizează atunci când hormonul secretat de celula glandei endocrine migrează direct spre celula țintă:



După acest mecanism are loc de exemplu transmiterea informației la nivelul sinapselor:



c) **comunicarea autocrină** are loc atunci când celula țintă este reprezentată chiar de celula care a secretat hormonul:



Hormonii tisulari sunt sintetizați și secretați de către alte țesuturi ale căror funcții sunt total diferite de cele ale glandelor endocrine. Un exemplu concret în acest sens îl reprezintă hormonii gastrointestinali sau cei placentari.

Un alt criteriu de clasificare a hormonilor îl constituie **glanda care îi secretă**. Din acest punct de vedere se disting mai multe clase de hormoni: tiroidieni, adenohipofizari, neurohipofizari, hormonii hipofizei intermediare, medulosuprarenali, corticosuprarenali, epifizari, hormonii timusului, paratiroidieni, pancreatici și gonadali.

După **natura lor chimică**, hormonii se împart în trei clase principale:

a) Hormoni derivați de la aminoacizi. Pentru biosinteza acestora se utilizează în calitate de precursori diferiți aminoacizi, în special cei aromatici. Aceștia sunt utilizați fie sub formă legată în diferite catene polipeptidice (ca în cazul tirozinei ce reprezintă precursorul hormonilor tiroidieni), fie sub formă liberă. În urma unor procese enzimactice ei sunt transformați în hormoni capabili să-și îndeplinească funcțiile lor specifice.

b) Hormoni cu structură polipeptidică și proteică. Din această clasă fac parte hormonii reglatori ai hipotalamusului, hormonii hipofizari, hormonii pancreatici și hormonii paratiroidieni.

c) Hormonii cu structură steroidică sunt hormonii corticosuprarenali și cei gonadali. Precursorul comun utilizat în biosinteza acestora îl reprezintă colesterolul.

În afară de aceste trei clase, unii autori mai diferențiază și o a patra grupă de hormoni, cei **derivați de la acizii grași**. Aceștia sunt, însă, mai puțin numeroși, fiind mai degrabă substanțe cu acțiune hormonală și nu hormoni propriu-ziși. După alți autori, în funcție de structura lor chimică, hormonii vertebratelor se clasifică în cinci grupe astfel:

a) hormoni aminergici, derivați de la fenilalanină:

- adrenalina și noradrenalina secretate de medulosuprarenală;
- tiroxina și triiodtironina secretate de glanda tiroidă;

b) hormoni peptidici și polipeptidici:

- neurohormonii de tipul liberinelor;
- ocitocina și vasopresina secretate de lobul posterior al glandei

hipofize;

- gastrina din mucoasa gastrică și intestinală;
- glucagonul secretat de către pancreas;
- corticostimulina secretată de către adenohipofiză;

c) hormoni glicoproteici:

– tireostimulina, hormonul foliculo-stimulant și hormonul luteinizant secretați de către adenohipofiză;

d) hormoni proteici:

- insulina pancreatică;
- prolactina și hormonul de creștere sintetizați de adenohipofiză;

e) hormoni steroidici:

- hormonii corticosuprarenali;
- hormonii androgeni;
- hormonii estrogeni.

În prezent, se mai utilizează o clasificare a hormonilor în funcție de regn și apartenența sistematică a organismelor la care se face referire, existând, din acest punct de vedere, hormoni specifici vertebratelor, hormonii insectelor, fitohormonii etc.

O altă clasificare a hormonilor se face în funcție de procesele asupra cărora acționează. Din acest punct de vedere hormonii se împart astfel:

a) hormoni metabolici;

b) hormoni morfogenetici;

c) **hormoni cinetici sau organotropi;**

d) **hormoni endocrinocinetici.**

Sistemul hormonal intervine în metabolismul glucidelor, lipidelor și proteinelor, în creștere, sexualitate, reglarea temperaturii interne, a glicemiei, calcemiei, echilibrului hidro-mineral etc. Glandele endocrine deversează în sânge hormoni care acționează la distanță asupra organelor țintă în concentrații extrem de mici (de ordinul 1 pM – 1 nM). Timpul de acțiune oscilează între limite foarte largi, fiind mai mic de 5 minute pentru hormoni din hipotalamus și de câteva ore pentru cei steroidici (Berrino, 2003).

Activitatea hormonală este direct condiționată de existența așa-numitelor **proteine vector**, de capacitatea lor de a interacționa cu acestea și de viteza cu care ele se degradează. Proteinele vector pot fi localizate în nuclee (pentru hormoni steroidici) sau în membranele celulelor țintă (pentru cei de natură polipeptidică).

Există o serie de substanțe chimice ale căror efecte sunt antagoniste efectelor generate de hormoni, acestea purtând denumirea de **antihormoni** sau **antagoniști hormonal**i. În calitate de antihormoni pot acționa enzimele participante la catabolismul hormonilor, unele medicamente și substanțe toxice care inhibă procesele de biosinteză a hormonilor, precum și unii produși intermediari de degradare a acestora. În unele situații, în special în cazul hormonilor cu structură polipeptidică și proteică, doze mari ale acestora pot acționa ca antihormoni fiind capabile să inducă formarea de anticorpi specifici ce joacă, la rândul lor, funcții antihormonale.

În multe situații, pentru unul și același proces, organismul produce atât hormoni cu rol stimulator cât și hormoni cu rol inhibitor, din care cauză unii hormoni sunt antagoniștii altora.

Un exemplu concret în acest sens îl reprezintă hormonii pancreasului. Astfel, insulina este un hormon hipoglicemiant în timp ce glucagonul are efect hiperglicemiant, iar echilibrul între acțiunile contrare ale acestora se realizează pe cale neurohormonală. Există, de asemenea, situații când un anumit antihormon poate să prezinte acțiune antagonistă doar față de unul din efectele manifestate de hormonul vizat.

Studiul hormonilor prezintă importanță practică nu numai din punct de vedere medical în scopul înlăturării sau, cel puțin, al diminuării efectelor de hipo- și/sau hipersecreție.

Așa cum se întâmplă și în cazul altor descoperiri științifice (și este suficient să amintim în acest context obținerea de plante și animale modificate genetic, clonarea, utilizarea celulelor stem etc.) și în cazul hormonilor, unele aspecte ale utilizării lor practice rămân deocamdată

controversate. Un astfel de aspect îl reprezintă utilizarea hormonilor în calitate de activatori de creștere la animale. Evident, sporurile de producție zootehnică sunt considerabile, însă, hormonii utilizați în acest scop ajung în produsele alimentare și pot avea repercusiuni nedorite asupra sănătății oamenilor.

În 1988, Comisia Europeană a interzis utilizarea în calitate de activatori de creștere la animale a estradiolului, testosteronului, progesteronului, zeranolului, acetatului de melengestrol și altele.

Această interdicție ar fi trebuit să fie riguros respectată de la 1 ianuarie 1989 de către toate țările membre ale Uniunii Europene și de către exportatorii de produse din carne pe piața vest-europeană. Drept urmare, țările care intenționau să exporte în CE carne și produse din carne ar fi trebuit să-și armonizeze legislația cu cea vest-europeană în ceea ce privește creșterea animalelor fără utilizarea de hormoni.

Printre aceste țări se numără SUA și Canada care au contestat măsura interzicerii utilizării hormonilor de către CE și, în absența unei convenții reciproce, Statele Unite au aplicat o serie de măsuri sub forma dreptului *ad valorem* în proporție de 100% la o serie de exporturi comunitare în valoare de 93 milioane de dolari pe an.

În mai 1996 aceste măsuri americane au fost înăsprite după ce Comunitatea Europeană a cerut (în aprilie 1996) unei comisii internaționale să se pronunțe asupra măsurilor unilaterale americane care nu aveau nici o fundamentare în legislația OMC și GATT. În martie 1996, SUA și Canada au demarat o serie de consultări formale cu CE în cadrul organismului de reglementare a diferendelor din cadrul OMC și, drept urmare, au fost create două grupuri de specialitate ale OMC care aveau misiunea de a analiza interdicția comunitară referitoare la interzicerea utilizării hormonilor în zootehnie raportată la obligațiile impuse Comunității Europene de către OMC.

Aceste organisme ale Organizației Mondiale a Comerțului au dat publicității rapoartele analizei lor în august 1997 conform cărora măsurile comunitare nu sunt în conformitate cu dispozițiile Acordului Sanitar și Fitosanitar (acordul SPS).

Disputele au continuat între cele două părți până în 1999 când CE a adoptat normele internaționale de protecție în cadrul așa-numitului *Codex Alimentarius*, iar arbitrajul OMC s-a pronunțat asupra caracterului riscurilor și a problemelor conexe pe care le prezintă utilizarea hormonilor:

- pot fi calitative și/sau cantitative;
- existența unor dificultăți referitoare la controlul, verificarea și punerea în practică a normelor veterinare ale CE;

- luarea în calcul a avertismentelor comunităților științifice în domeniu;
- evaluarea urmărilor posibile asupra sănătății oamenilor a utilizării hormonilor în creșterea animalelor.

Drept răspuns la concluziile organului de apel, Comunitatea Europeană a lansat un număr de 17 studii experimentale referitoare la urmările toxicologice și cancerigene ale hormonilor.

1.2. Biosinteza, secreția, transportul și degradarea hormonilor

Viteza de biosinteză și secreția hormonilor diferă de la caz la caz. Cu mici excepții (ca în cazul hormonilor tiroidieni de exemplu), cantitățile de hormoni existente în celulele glandulare sunt mici sau foarte mici, nedepășind necesitățile unei zile de funcționare normală.

Datorită mării lor diversități structurale, căile de biosinteză ale hormonilor sunt diferite, depinzând de glanda în care are loc procesul biosintetic, structura chimică a hormonilor ce urmează a se sintetiza, asigurarea necesarului de precursori etc.

a. Biosinteza hormonilor derivați de la aminoacizi

Căile de biosinteză ale acestor hormoni sunt cele mai simple. De exemplu, medulo-suprarenala sintetizează adrenalina utilizând tirozina în calitate de precursor, procesul biosintetic având loc în mai multe etape. Dintre acestea, una este mai puțin supusă reglării: biosinteza enzimei de metilare (ce acționează în ultima etapă) este indusă de gluco-corticosteroizii sintetizați în zona corticală vecină. În ceea ce privește biosinteza hormonilor tiroidieni (T_3 și T_4), un rol important îl joacă o proteină-suport (matriță) numită **tiroglobulină** care permite stocarea hormonilor în glandă. Și în acest caz se utilizează tirozina în calitate de precursor, iar iodul este un factor limitant al procesului biosintetic.

b. Biosinteza hormonilor polipeptidici și proteici se realizează prin mecanismele generale ale biosintezei proteice. Acești hormoni sunt, de regulă, glicoproteine. Ei sunt stocați în celulă sub formă de granule, iar secreția se face printr-un proces de exocitoză. În cazul insulinei, dar și pentru alți hormoni polipeptidici, s-a demonstrat că inițial se sintetizează molecule mai mari – **pre-hormoni**. Aceștia reprezintă produșii primari ai procesului biosintetic, sunt inactivi și suferă apoi o scindare enzimatică cu eliberarea hormonului activ.

Structurile secundare și terțiare ale pre-hormonilor sunt organizate în așa fel încât este facilitat accesul enzimelor proteolitice către secvențele vizate.

Actualmente, există încă dubii în ceea ce privește biosinteza unor hormoni cu masă moleculară mică, în primul rând a celor din hipotalamus (T-RH, LH-RH etc.). Unii autori postulează existența unui mecanism enzimatic pur, *non-ribozomal*, în timp ce alți cercetători combat această ipoteză. Este posibil ca și acești hormoni să se formeze prin fragmentarea enzimatică a pre-hormonilor corespunzători.

c. Biosinteza hormonilor steroidici. Procesul de biosinteză al majorității acestor hormoni utilizează în calitate de precursor colesterolul de origine hepatică sau cel exogen (alimentar). În afară de aceasta, celulele glandulare posedă echipamentele enzimactice necesare completării necesarului de colesterol prin biosinteză proprie, plecând de la acetil-CoA în cazul unor deficiențe de transport.

În unele cazuri, steroizii secretați pot fi considerați pre-hormoni. Aceștia sunt inactivi sau puțin activi și sunt transportați în alte formațiuni celulare steroidogene unde se desăvârșește biosinteza hormonilor activi. În fine, unii hormoni steroidici pot prezenta activități diferite față de diferite organe țintă. Testosteronul, de exemplu, este activ la nivelul unor organe țintă (mușchi), dar își manifestă deplina sa eficacitate în altele (prostată), prin conversie în metaboliți activi în chiar celulele acestor organe.

După desăvârșirea procesului biosintetic, hormonii sunt secretați în sânge unde pot exista sub două forme distincte:

- a) *sub formă solubilă, în plasma sanguină;*
- b) *sub formă legată de celulele sanguine.*

Indiferent în care din cele două forme se află, hormonii intră în acțiune cu toate componentele plasmatică și, în primul rând, cu proteinele. Din punct de vedere cantitativ, cele mai importante sunt albuminele plasmatică, care prezintă o afinitate relativ scăzută față de moleculele cu masă moleculară mică, dar care au o capacitate de fixare crescută comparativ cu alte proteine datorită existenței unui număr mare de situsuri de legare.

În plasma sanguină mai există un număr relativ mic de proteine de transport ce pot lega hormonii în mod specific. Pentru hormonii steroidici de exemplu, se cunosc mai multe proteine transportoare cum ar fi transcortina (*corticosteroid binding globulin – Cbg*) cu afinitate față de glucocorticoستيروizi și progesteron sau proteina *Sbp* (*sex steroid binding plasma protein*) care interacționează cu testosteronul și estradiolul. Și pentru hormonii

tiroidieni există, în plasmă, proteine specifice de transport (**Tbg** – *thyroxine binding globulin*).

Nu este, însă, obligatoriu ca hormonii să interacționeze cu proteinele plasmatice (**Pp**) pentru a fi vehiculați către organele țintă. Din contră, o interacțiune prea puternică între hormon și transportor poate determina o întârziere (prin „capturare”) a hormonului respectiv în compartimentul sanguin. Legea acțiunii maselor aplicată în acest caz este:



unde:

Pp – proteină plasmatică transportoare;

H – forma liberă a hormonilor dizolvați în plasma sanguină.

În aceste condiții, este logic că o creștere a concentrației **Pp** și/sau o scădere a constantei de echilibru, defavorizează activitatea hormonală imediată. Proteinele plasmatice capabile să lege hormonii sunt, în general, glicoproteine cu mase moleculare cuprinse între 50 și 70 kDa care prezintă concentrații extrem de variate de ordinul mg/l – g/l. Mulți dintre acești transportori, cum ar fi **Cbg** și **Tbg** identificați la toate animalele, se întâlnesc în plasma sanguină în mod constant, în timp ce alții au fost detectați doar în anumite momente: **Pbp** (*progesterone binding plasma protein*) se întâlnește la femelele de cobai numai în timpul gestației, iar **Ebp- α -Pp** (*oestradiol binding α -foetoprotein*) se găsește în foetus-ul de șobolan.

După biosinteza lor, sângele distribuie hormonii relativ rapid în tot organismul (fig. 1.2).

Aceasta înseamnă că ei ajung, în mare măsură, atât la organele țintă asupra cărora acționează după care sunt degradați și eliminați, cât și la celelalte organe și țesuturi față de care sunt neutri.

Accesul hormonului la celulele țintă este favorizat de particularitățile capilarelor și este facilitat de interacțiunile ce apar între proteinele de transport și membrana celulară în cazul hormonilor tiroidieni și steroidici, respectiv, receptorii specifici intracelulari pentru ceilalți hormoni.

Pentru a-și exercita acțiunea la nivelul celulei țintă, hormonul interacționează fizico-chimic cu receptorul, ceea ce înseamnă că efectul încetează dacă aportul de hormon este stopat. De aceea, este absolut obligatoriu un aport continuu de hormoni, interacțiunea cu receptorii fiind reversibilă, fără formare de legături covalente.

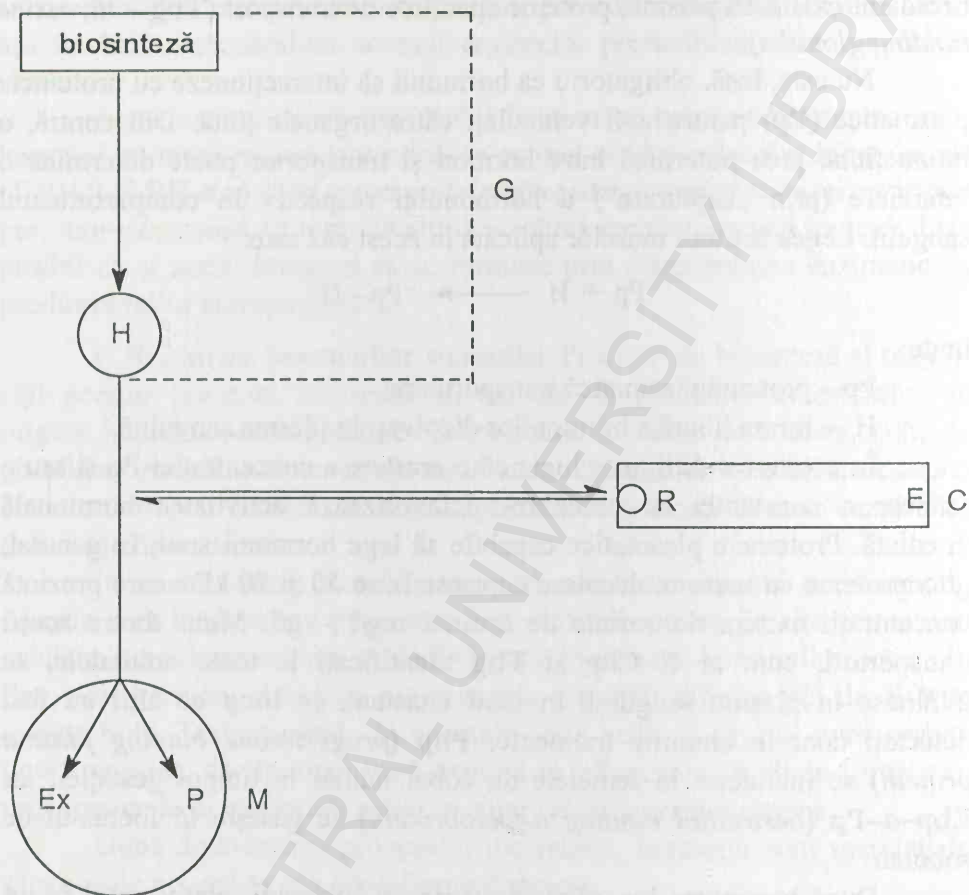


Figura 1.2. Reprezentarea schematică a circulației hormonilor. Un hormon H secretat de o glandă G este vehiculat pe cale sanguină ajungând la celula țintă C unde interacționează cu un receptor specific R producând efectul E, după care se degradează în „celulele metabolice” M cu formarea produșilor P care se elimină, sau sunt excretați direct (Ex) fără a mai fi degradați (Baulieu, 1978).

În unele cazuri, o parte din cantitatea de hormoni ajunsă la celula țintă este degradată la nivelul membranei sau în interiorul celulei, iar produșii de degradare sunt eliminați prin sânge.

Această schemă generală de transport și distribuție a hormonilor poate fi mult modificată în cazul acelor hormoni ce nu au acces în circulația generală, ei migrând doar în anumite organe. Acest lucru este posibil datorită mecanismelor biochimice speciale prin care hormonul secretat este protejat și orientat doar către anumite organe. Așa se întâmplă, de exemplu,

cu glucocorticosteroizii care, imediat după secreția lor de către corticosuprarrenală, irigă celulele medulosuprarenalei, inducând biosinteza enzimei de metilare a noradrenalinei.

Același lucru se întâmplă cu unii hormoni din hipotalamus care acționează asupra celulelor lobului anterior al hipofizei. În legătură cu aceasta, în prezent nu se cunoaște dacă valorile scăzute ale concentrațiilor acestor hormoni în circuitul general au sau nu o semnificație funcțională pentru alte organe și țesuturi.

La nivelul testiculelor, raporturile dintre celulele endocrine Leydig și tubii seminiferi sunt, de asemenea, particulare. Tubii seminiferi reprezintă țesuturi țintă pentru androgeni (fig. 1.3).

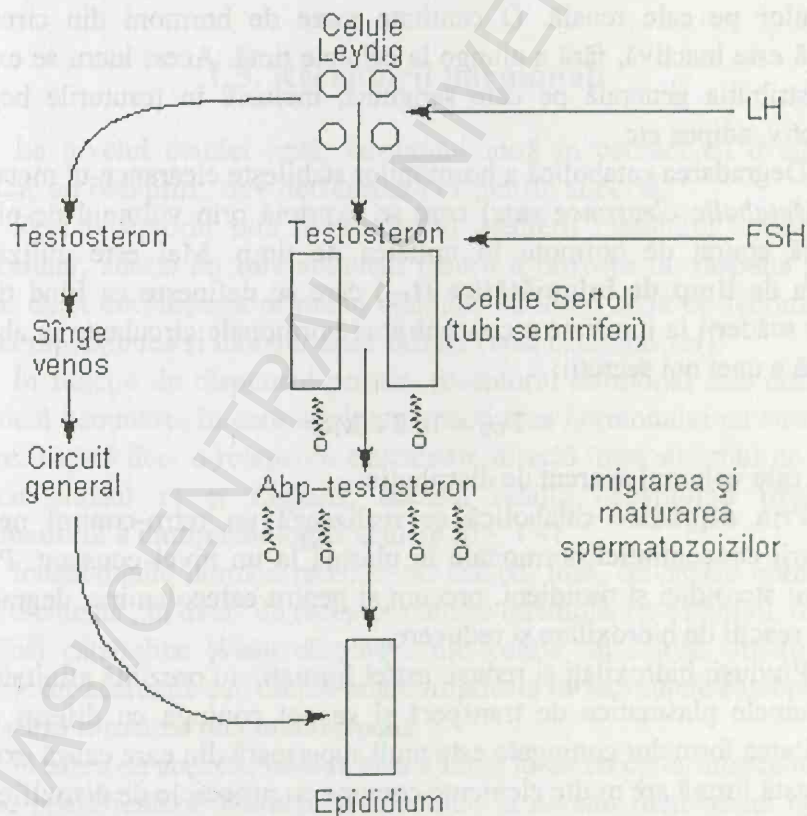


Figura 1.3. Distribuția testosteronului la nivel testicular (Baulieu, 1978).

Testosteronul sintetizat în celulele Leydig poate fi transportat pe două căi diferite. Cea mai importantă parte intră, însă, în tubii seminiferi

unde acționează asupra celulelor Sertoli. Acestea sintetizează proteina transportoare de androgeni (*androgen binding protein* – **Abp**) foarte asemănătoare cu **Sbp** (*sex steroid binding plasma protein*). Ea leagă hormonul pe care îl transportă la nivelul epididimului. Cunoașterea acestor circuite hormonale „locale” este extrem de importantă din punct de vedere clinic deoarece dozarea hormonilor în plasma sanguină nu reflectă întotdeauna concentrațiile totale.

Situată la cealaltă extremitate a sistemului hormonal comparativ cu biosinteza, degradarea catabolică condiționează în mod direct nivelul sanguin optim al hormonilor, contrabalansând secreția acestora. Etapa decisivă o constituie transformarea moleculei hormonului activ într-un metabolit inactiv. Aceasta este calea cea mai frecventă de eliminare a hormonilor pe cale renală. O cantitate mare de hormoni din circulația generală este inactivă, fără a ajunge la celulele țintă. Acest lucru se explică prin distribuția generală pe cale sanguină, inclusiv în țesuturile hepatic, conjunctiv, adipos etc.

Degradarea catabolică a hormonilor stabilește clearance-ul metabolic **Mcr** (*Metabolic clearance rate*) care se exprimă prin volumul de plasmă sanguină epurat de hormoni în unitatea de timp. Mai este utilizată și noțiunea de **timp de înjumătățire** ($t_{1/2}$) care se definește ca fiind timpul necesar scăderii la jumătate a concentrației hormonale circulante în absența teoretică a unei noi secreții:

$$T_{1/2} = \ln 2V/Mcr$$

unde V este volumul aparent de distribuție.

Prin degradare catabolică se realizează un retro-control necesar menținerii concentrației hormonale în plasmă la un nivel constant. Pentru hormonii steroidici și tiroidieni, precum și pentru catecolamine, degradarea include reacții de hidroxilare și reducere.

Prođușii hidroxilați și reduși, astfel formați, nu prezintă afinitate față de proteinele plasmatiche de transport și se pot conjuga cu diferiți acizi. Solubilitatea formelor conjugate este mult superioară din care cauză excreția sub această formă are multe elemente comune cu procesele de detoxifiere.

S-a observat că unii metaboliți mai prezintă încă activitate biologică. Așa se întâmplă în cazul 5- β -steroizilor care joacă rol de inductori pentru δ -aminolevulinat-sintetaza implicată în biosinteza nucleului porfirinic al hemoglobinei la embrionul de găină, sau al aldosteronului care prezintă

efect hipocolesterolemiant la om. Aceste observații constituie o dovadă în plus asupra rolului metabolic al hormonilor.

Pentru majoritatea hormonilor cu molecule mici, ciclice, excreția sub formă nemodificată (activă) este minimă. În general, aceștia sunt eliminați sub formă inactivă, cu o structură chimică foarte puțin modificată comparativ cu forma activă.

Degradarea completă până la CO_2 și H_2O este nesemnificativă. Hormonii cu structură polipeptidică și proteică sunt hidrolizați enzimatic cu formarea aminoacizilor componenți care urmează căile metabolice generale pentru toți aminoacizii. Acești hormoni intră, deci, în căile specifice de degradare ale holo- și heteroproteinelor, chiar dacă anumite cantități se elimină pe cale urinară.

1.3. Receptorii hormonal

La nivelul celulei țintă, hormonul intră în contact cu o structură specifică, un **receptor**, care declanșează răspunsul adecvat.

Deși receptorul este indispensabil medierii mesajului hormonal la nivel celular, acesta nu este suficient pentru a provoca un răspuns global. Imediat după declanșarea primului răspuns, au loc o serie de fenomene ce țin de complexitatea și integralitatea celulei (vezi capitolul 1.4).

În funcție de răspunsul primar, receptorul hormonal este definit ca fiind locul geometric în care are loc interacțiunea hormonului cu structurile celulare. Există deci o relație de cauzalitate directă între sistemul de legare (implicit situsul r) și răspuns, această relație constituind **problema fundamentală a endocrinologiei** actuale (fig. 1.4).

Interacțiunile hormon-receptor nu exclud, însă, contactele hormonilor cu alte elemente „în aval” de receptor cum se întâmplă, de exemplu, în cazul degradării catabolice și/sau eliminării din celulă. În aceste situații, însă, enzimele intracelulare sau membranare implicate în secvențele catabolice nu declanșează formarea nici unui răspuns.

În afară de aceasta, înainte de a ajunge la un receptor intracelular, un hormon poate realiza interacțiuni specifice la nivelul membranei celulare sau cu alte elemente intracelulare. Se poate afirma, deci, că un hormon interacționează cu receptorul său specific, dar poate realiza și alte interacțiuni.

Pe de altă parte, există situații când pentru unul și același hormon celula conține mai mulți receptori (fig. 1.5).

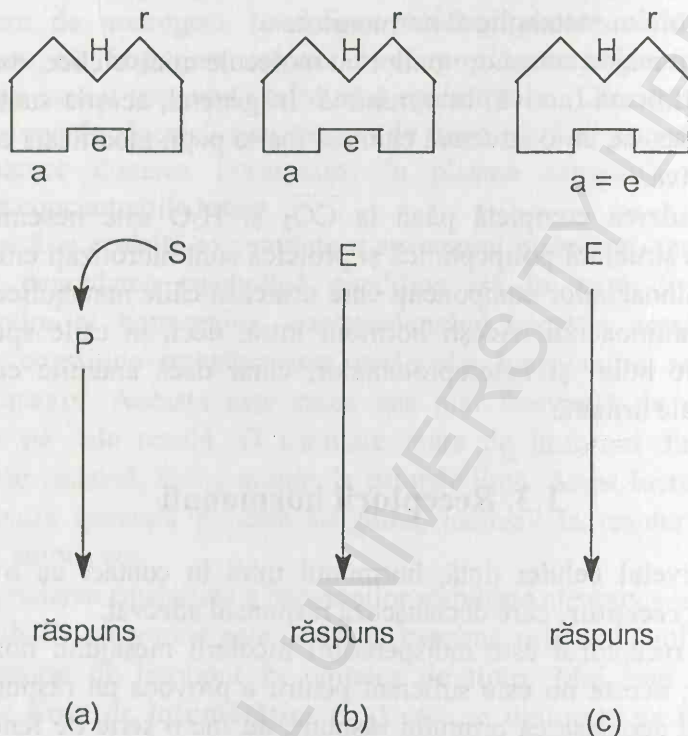


Figura 1.4. Structura și mecanismele posibile de acțiune ale receptorilor hormonal.
(Idelman, 1990):

a) Când receptorul este o enzimă, situsul e este centrul său activ, iar r este situsul de legare a hormonului. Un substrat S este transformat în produsul P la nivelul situsului e ; b) Situsul receptor interacționează cu efectorul E care îl activează. În acest caz situsurile a și e sunt distincte; c) Mecanismul este același ca în cazul (b) cu deosebirea că situsurile a și e sunt identice.

Dacă un hormon, al cărui receptor specific este localizat în cromatină, interacționează în drumul său cu unele elemente structurale membranare, el poate produce și un efect independent, cum ar fi modificarea permeabilității, în afară de efectul principal la nivelul transcripției. În asemenea situații, se declanșează succesiv o serie de efecte, spre deosebire de situația interacțiunii simultane cu mai mulți receptori care sunt accesibili pentru același hormon, în același timp, în aceeași celulă. Așa se întâmplă în cazul estradiolului care interacționează simultan cu receptorii specifici hormonilor estrogeni și androgeni.

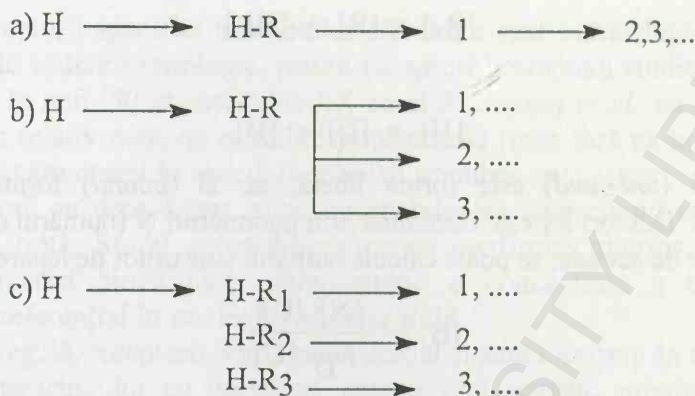
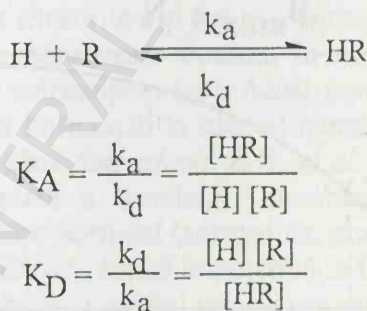


Figura 1.5. Reprezentarea schematică a interacțiunilor hormon-receptor (Idelman, 1990):
 a) Hormonul H interacționează cu un receptor R determinând un răspuns unic 1 care, la rândul lui, dă efectele secundare $2, 3$ etc; b) Hormonul H interacționează cu un singur receptor R provocând mai multe efecte, simultan sau nu, într-unul sau mai multe compartimente celulare; c) Hormonul H interacționează cu mai mulți receptori, fie direct, fie trecând de la un receptor la altul, provocând efectele specifice corespunzătoare.

Interacțiunile dintre hormoni și receptorii lor specifici sunt *necovalente* și *reversibile*, ele respectând legea acțiunii maselor:



unde:

- $[H]$ – concentrația hormonului liber;
- $[R]$ – concentrația situsurilor de legare libere din receptor;
- $[HR]$ – concentrația complexului hormon-receptor;
- K_A – constanta de asociere la echilibru (M^{-1});
- K_D – constanta de disociere la echilibru (M);
- k_a – constanta vitezei de asociere ($M^{-1} \cdot s^{-1}$);
- k_d – constanta vitezei de disociere (s^{-1}).

Notând cu R_T numărul total al situsurilor de legare ale receptorilor se poate scrie:

$$[R_T] = [R] + [HR]$$

sau:

$$[H] = [U] + [B]$$

în care: U (*unbound*) este forma liberă, iar B (*bound*) forma legată a hormonului. Deseori R_T este desemnat prin parametrul N (numărul de situsuri). Ținând cont de aceasta, se poate calcula numărul situsurilor de legare ca fiind:

$$[B] = \frac{[N] [U]}{K_D + [U]}$$

Sistemul de legare aflat la echilibru este definit când $[N]$ și K_D sunt cunoscute. Concentrația receptorului nu poate fi evaluată decât atunci când se cunoaște numărul de situsuri n dintr-o moleculă și ea va fi $[N]_n$.

Ecuția de mai sus este similară cu cea care descrie comportamentul michaelian al reacțiilor enzimaticе, iar reprezentarea grafică este o hiperbolă ce tinde asimptotic la paralela la abscisă dusă din punctul V_{max} , maximul fiind $[N]$ (fig. 1.6).

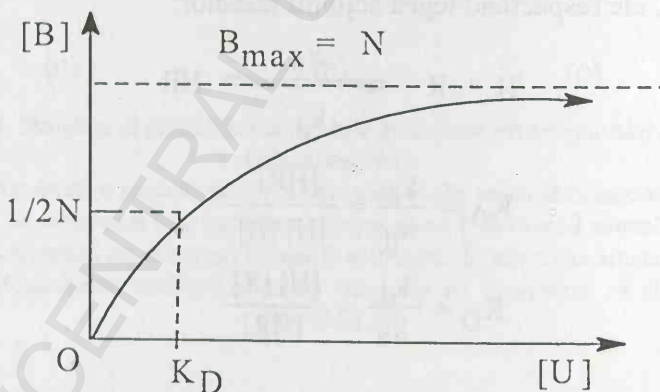


Figura 1.6. Reprezentarea grafică a dependenței vitezei de interacțiune a hormonului cu situsurile de legare ale receptorilor (Hulme, 1990).

În majoritatea cazurilor, situsurile de legare ale receptorilor nu interacționează doar cu hormonii. Pe de altă parte, aceștia din urmă pot interacționa și cu alte molecule din mediu, numite **receptori nespecifici**, care conțin situsuri cu o geometrie sterică relativ apropiată de configurația hormonului. Afinitatea hormonilor față de acești receptori este, însă, foarte scăzută (Hefco, 1997).

Receptorii specifici hormonilor steroidici sunt intracelulari, ei fiind, din punct de vedere cronologic, primii receptori hormonal studiați. Au fost identificați în anii '50 ai secolului XX când *E. Jensen et al.* au determinat concentrații relativ mari de estradiol în țesuturile țintă, fără ca hormonul să fie modificat structural în uterul de șobolan impuber sau castrat.

Autorii au demonstrat atunci reversibilitatea interacțiunii estradiolului cu celulele țintă. Studii autoradiografice au confirmat ulterior rezultatele acestor cercetări biochimice, demonstrând o concentrare a hormonilor steroidici preferențial în nucleeele celulelor țintă.

De regulă, receptorii hormonilor steroidici sunt localizați în citoplasmă. În urma interacțiunilor cu hormonii, aceștia sunt activați, suferind apoi un proces de translocare, migrând în nucleu (*Filardo and Thomas, 2005*).

Etapă limitantă a acestui proces o reprezintă, deci, legarea hormonului de receptorul său specific, fenomen ce are loc în citosol. Fenomenele ulterioare se desfășoară cu mare rapiditate în condițiile de temperatură și presiune osmotică din celulă (fig. 1.7).

După legarea hormonului, acceptorul capătă o mare afinitate față de anumite structuri nucleare acceptoare. Acceptorul nuclear nu este încă definit în termeni moleculari. Este foarte posibil ca receptorul să interacționeze cu o structură nucleară ce poate fi concomitent atât acceptor cât și efector, în care caz situsurile a și e sunt identice.

Unele efecte ale hormonilor constau în modificarea transportului transmembranar al unor substanțe și ioni. Acest fapt a sugerat posibilitatea localizării unor receptori hormonal la nivelul membranelor celulelor țintă. Cercetările efectuate de către *Sutherland, E.W. et al. (1972)* au fost decisive pentru elucidarea completă a localizării membranare a unor receptori hormonal. În prezența unor hormoni (adrenalina, glucagonul etc.) autorii au detectat o activitate *adenilat-ciclazică* importantă în fracțiunile membranare.

Ulterior, a fost observat efectul unor hormoni (ACTH, insulina etc.) fixați pe suporturi solide insolubile (celuloză, Sepharose) asupra celulelor intacte în interiorul cărora nu puteau pătrunde.

Recent, aceste supoziții au fost confirmate definitiv prin utilizarea unor fracțiuni membranare purificate și relativ intacte în studiul interacțiunii receptorilor membranari cu peptide marcate radioactiv, ACTH, angiotensină, insulină și cu alți hormoni.

Activitatea receptorilor membranari față de hormoni este, în general, foarte mare observându-se o viteză de asociere crescută (timpul de înjumătățire al complexilor H - R este de câteva minute. Numărul situsurilor de legare existent la nivelul membranei unei celule este însă foarte mic, el oscilând între 10^3 și 10^5 .

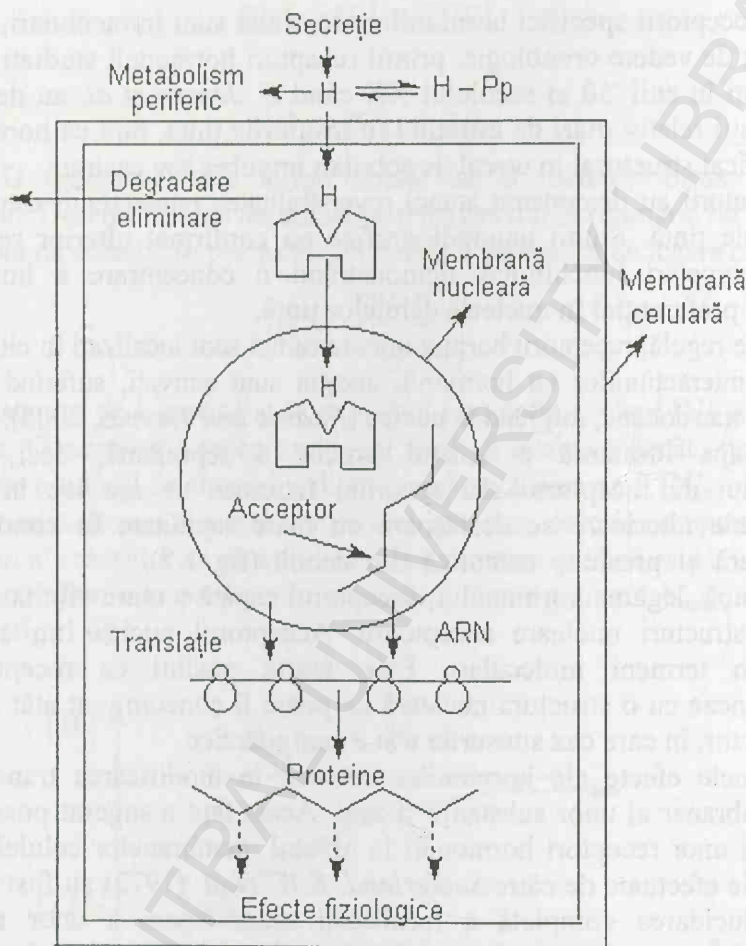


Figura 1.7. Reprezentarea schematică a transportului transmembranar al hormonilor steroidici (Idelman, 1990).

Receptorii sunt localizați, probabil, la suprafața externă a membranei celulare, această localizare favorizând enorm interacțiunea cu hormonii, dat fiind faptul că aceștia vin din mediul intracelular. Există o serie de factori care pot influența gradul de interacțiune al hormonilor polipeptidici cu receptorii specifici membranari.

Din punct de vedere fiziopatologic, factorii cei mai importanți sunt reprezentați de variațiile de pH (ce pot interveni în caz de acidoză și care influențează receptorii insulinei de exemplu), calciul extracelular (pentru receptorii ACTH și, probabil, ai altor hormoni), nucleotidele etc. Este cunoscut faptul că GTP este necesar activării adenilat-ciclazei de către

glucagon, crescând în mod paradoxal gradul de disociere a glucagonului de receptorul său specific care își diminuează afinitatea.

Structura receptorilor membranari este foarte puțin cunoscută. În cazul receptorilor acetilcolinei, insulinei, glucagonului, hormonului luteinizant, tireotropinei și prolactinei, datele experimentale indică o structură oligomerică cu masa moleculară de 140 – 550 kDa formată din subunități de 50 – 100 kDa, de formă asimetrică. Prin tratament proteolitic menajat s-a demonstrat faptul că acești hormoni sunt de natură proteică.

Până în prezent nu s-a demonstrat existența receptorilor de natură glucidică sau lipidică. Cu toate acestea, este posibil ca legarea hormonilor să se realizeze, fie direct la receptorul proteic, fie printr-un mecanism mai complex datorat unor efecte specifice ale fosfolipidelor membranare. Efectul produs de interacțiunea hormon-receptor apare în celulă la diferite nivele (fig. 1.8).

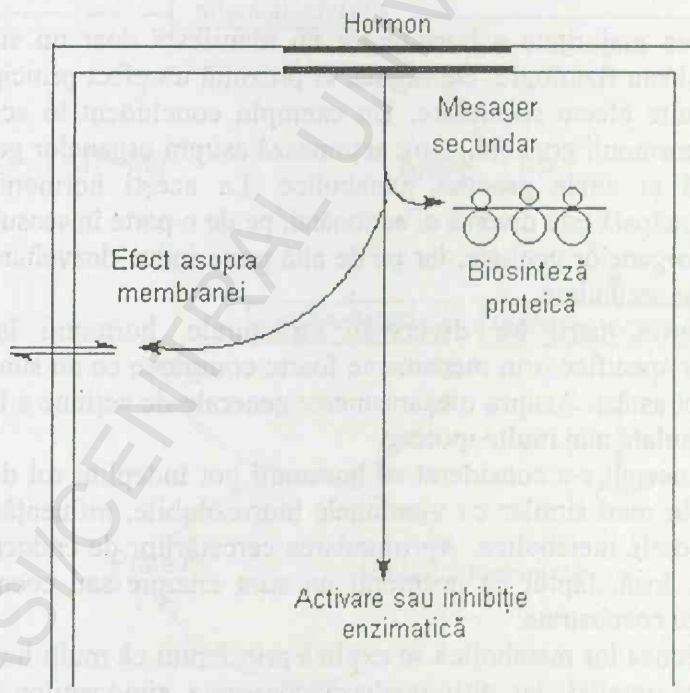


Figura 1.8. Efectele mesagerului secundar al unui hormon ce interacționează cu un receptor membranar (Idelman, 1990).

Răspunsul cel mai bine studiat, care a condus la definirea conceptului de **mesager secundar**, îl reprezintă creșterea vitezei de formare

a AMPc prin activarea *adenilat-ciclazei*, enzimă localizată la suprafața internă a membranei celulare deoarece complexul ATP-Mg^{2+} este localizat intracelular (vezi capitolul 1.4). Are loc de fapt o modificare destul de puternică a constantei K_M (și mai puțin a parametrului $V_{\max}$ al *adenilat-ciclazei*), ceea ce demonstrează faptul că au loc transformări calitative transmise alosteric de la situsul de legare.

Există date în literatură care atestă faptul că în unele cazuri crește concentrația de GMP_c sub acțiunea unei *guanilat-ciclaze* membranare. Un alt efect poate fi cauzat de interacțiunea directă (prin ocolirea celui de al doilea mesager) a receptorului cu un sistem de transport ionic (ionofor) sau cu situsurile de legare a calciului.

1.4. Mecanisme generale de acțiune ale hormonilor

Marea majoritate a hormonilor nu manifestă doar un singur efect biochimic și/sau fiziologic. De regulă, ei prezintă un efect principal și unul sau mai multe efecte secundare. Un exemplu concludent în acest sens îl reprezintă hormonii gonadali, care acționează asupra organelor genitale, dar influențează și unele procese metabolice. La acești hormoni, chiar și acțiunea principală este diversă ei acționând, pe de o parte în sensul stimulării dezvoltării organelor genitale, iar pe de altă parte induc dezvoltarea caracterelor sexuale secundare.

Datorită mării lor diversități structurale, hormonii își exercită acțiunile lor specifice prin mecanisme foarte complexe ce nu sunt elucidate complet nici astăzi. Asupra mecanismelor generale de acțiune a hormonilor au fost formulate mai multe ipoteze.

La început s-a considerat că hormonii pot îndeplini rol de cofactori enzimatici în mod similar cu vitaminele hidrosolubile, influențând în felul acesta procesele metabolice. Aprofundarea cercetărilor de endocrinologie a demonstrat, însă, faptul că hormonii nu sunt enzime sau coenzime, nici substrate sau cosubstrate.

Acțiunea lor metabolică se explică prin faptul că mulți hormoni sunt activatori enzimatici, iar alții mediază conversia zimogenilor în formele active ale enzimelor. Alți hormoni (de exemplu estrogenii) sunt inductori pentru unele enzime cheie.

Conform altei ipoteze, hormonii acționează asupra membranelor celulare modificându-le permeabilitatea. O serie de experimente a confirmat această ipoteză, demonstrând faptul că la baza mecanismului de acțiune a

numeroși hormoni stă interacțiunea acestora cu receptori specifici localizați la suprafața externă a membranelor celulare.

Într-o serie de experimente asupra scindării glicogenului cu formare de glucoză la nivel hepatic sub influența glucagonului și catecolaminelor (în special a adrenalinei), *Earl Sutherland* evidențiază rolul incontestabil al AMPc.

Hormonii din circulația sanguină reprezintă **primul semnal (mesager)**. Prin interacțiunea lor cu receptorii membranari se realizează o activare a *adenilat-ciclazei*. La rândul ei, aceasta catalizează formarea AMPc (al **doilea mesager** sau **mesagerul secundar**) care pătrunde în celulă declanșând o cascadă de procese biochimice specifice (fig. 1.9).

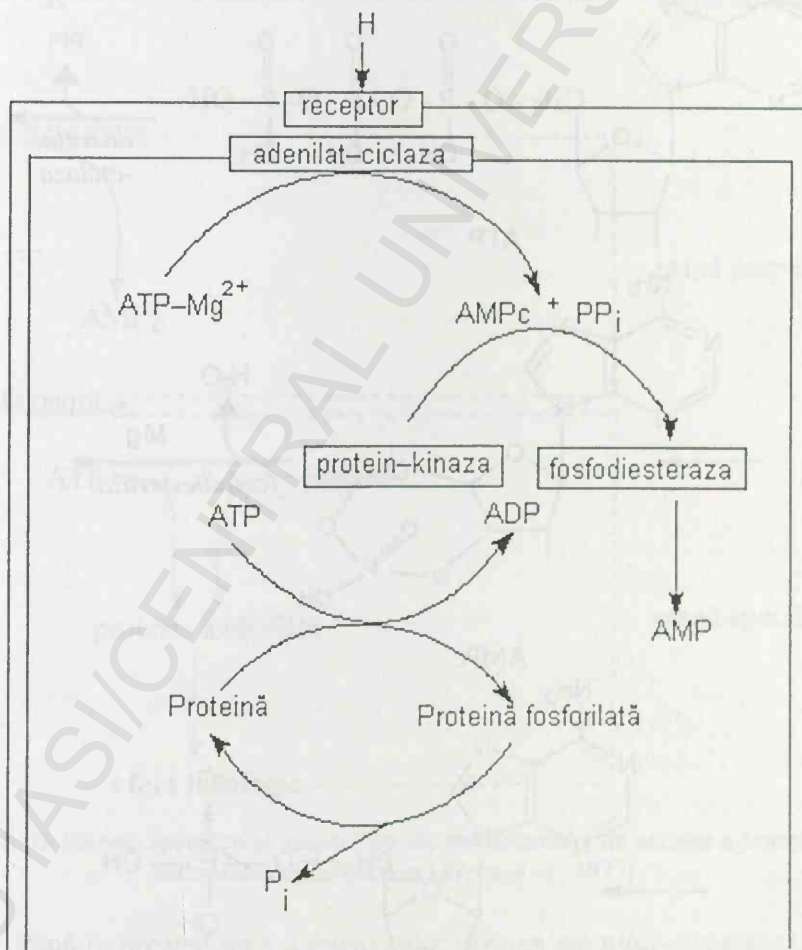
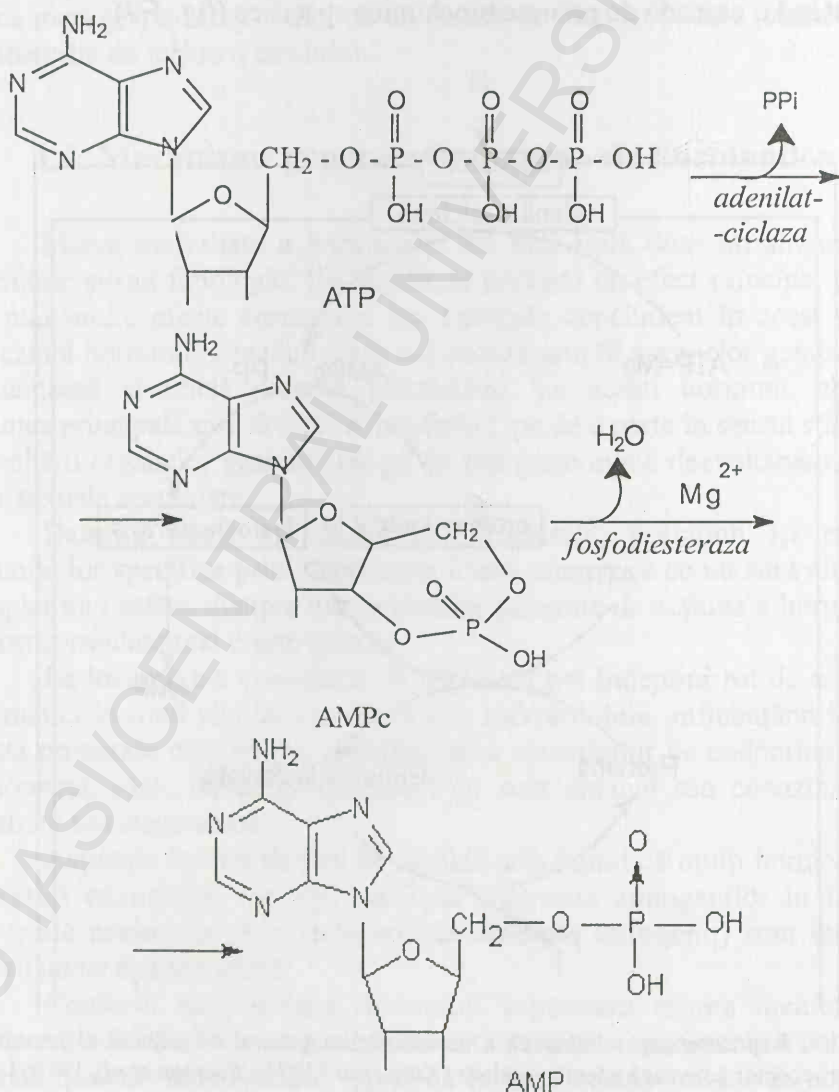


Figura 1.9. Reprezentarea schematică a mecanismului general de acțiune al hormonilor al căror receptor activează adenilat-ciclaza (King et al., 1974; Robison et al., 1970; 1971).

Are loc totodată un proces semnificativ de amplificare, deoarece concentrația hormonului în plasmă este de ordinul 0,1 nM, în timp ce concentrația AMPc în celule este de aproximativ 1 μ M.

În afară de acesta, efectul fosforilării proteinelor care induc generarea de AMPc prin activarea *protein-kinazelor* reprezintă încă o modalitate de amplificare a semnalului hormonal inițial.

Rolul *adenilat-ciclazei* (3',5'-ciclic-AMP sintetaza sau *ATP- pirofosfat liaza*, E.C. – 4.6.1.1.) este acela de a cataliza conversia ATP în AMPc:



Substratul real al transformării este complexul ATP-Mg^{2+} . *Adenilat-ciclaza* este un constituent intrinsec nespecific al membranei celulelor eucariote, prezența ei fiind extrem de importantă pentru formarea celui de-al doilea mesager (AMP_c).

Cu toate acestea, *adenilat-ciclaza* este încă parțial studiată. Este interesant faptul că hormonii și receptorii lor asigură specificitatea informației înainte de a se ajunge la *adenilat-ciclază* (fig. 1.10), aceeași specificitate asigurându-se și „în aval”, după activarea enzimei, prin faptul că răspunsul depinde de tipul celulei.

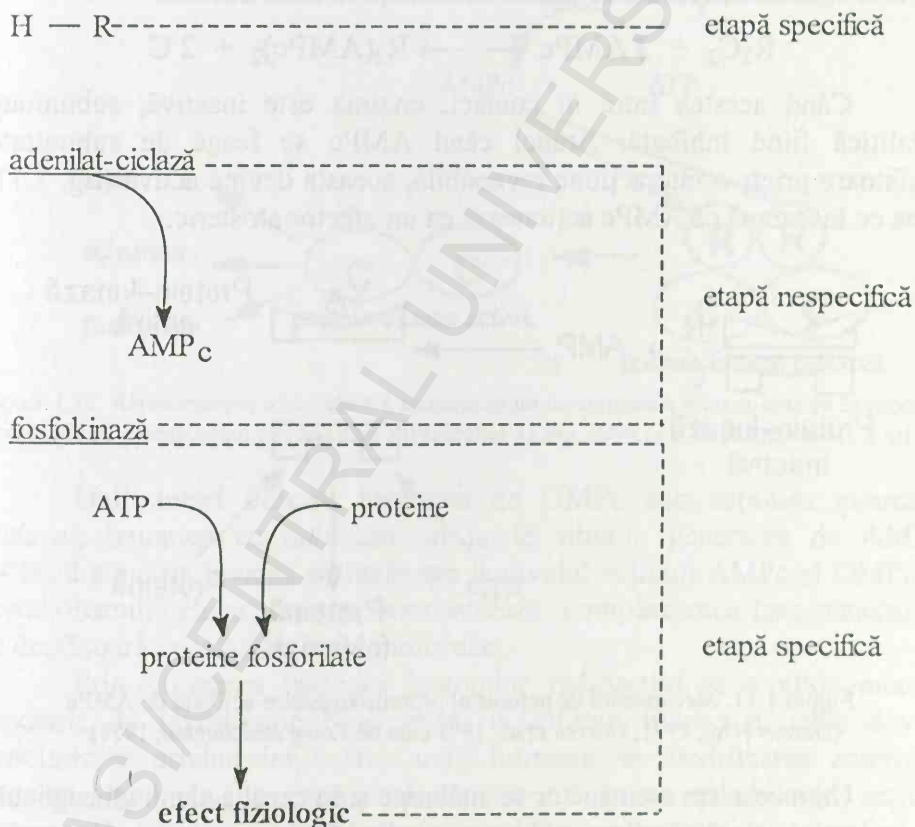


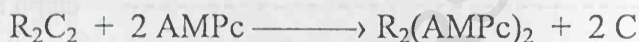
Figura 1.10. Etapele specifice și nespecifice ale mecanismului de acțiune a hormonilor ce activează *adenilat-ciclaza* (Krebs et al., 1973).

Până în prezent nu s-a reușit solubilizarea *adenilat-ciclazei* și se pare că ea este o enzimă foarte labilă. Din această cauză atât masa sa moleculară cât și constanta K_M nu sunt cunoscute cu precizie.

De asemenea, nu este încă elucidată complet natura interacțiunilor sale cu diferiți receptori hormonal sau cu alți compuși cum ar fi prostaglandinele și toxina holerică.

Între receptor și situsul catalitic al *adenilat-ciclazei* se pare că există o structură asupra căreia pot acționa diferiți reglatori, în special nucleotidele și prostaglandinele. Principala funcție a AMPc format în celulă este aceea de a activa *protein-kinazele*. *Protein-kinazele AMPc-dependente* conțin două tipuri de subunități: subunități **reglatoare (R)** și subunități **catalitice (C)**.

După legarea AMPc, subunitățile reglatoare (R) și catalitică (C) se separă, ceea ce determină activarea subunităților catalitice:



Când acestea intră în contact, enzima este inactivă, subunitatea catalitică fiind inhibată. Atunci când AMPc se leagă de subunitatea reglatoare printr-o interacțiune reversibilă, aceasta devine activă (fig. 1.11), ceea ce înseamnă că AMPc acționează ca un efector alosteric.

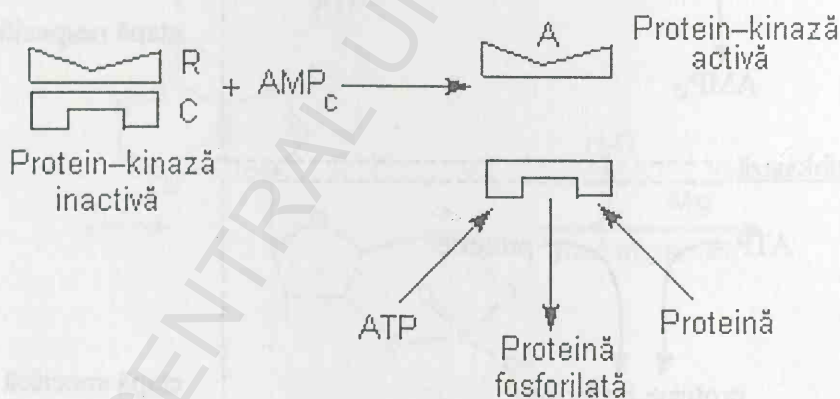


Figura 1.11. Mecanismul de acțiune al protein-kinazelor activate de AMPc (Garren et al., 1971; Garren et al., 1971 citat de Tsang and Singhal, 1974).

Un mecanism asemănător se întâlnește și în cazul acțiunii glucagonului asupra celulelor țintă. *Protein-kinaza* implicată în acest mecanism suferă aceleași etape de activare – inactivare întâlnite la toate *protein-kinazele* participante în astfel de fenomene (fig. 1.12).

Există o serie de hormoni care își exercită acțiunea diminuând activitatea *adenilat-ciclazei*. Acest efect a fost sugerat în cazul insulinei și rămâne controversat încă pentru alți hormoni.

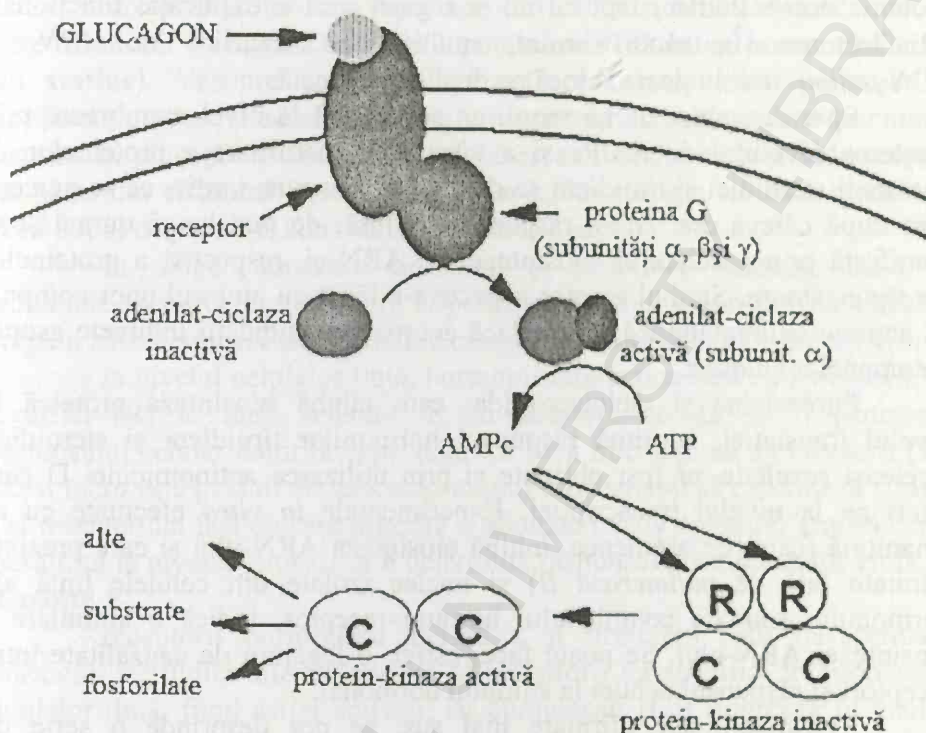


Figura 1.12. Reprezentarea schematică a mecanismului de activare a protein-kinazei în procesul interacțiunii glucagonului cu receptorii săi specifici (King, 1996 citat de Buteau et al., 2001).

Unii autori descriu formarea de GMPc sub acțiunea *guanilat-ciclazei*, fenomen ce dublează, în unele situații, generarea de AMPc. Această simetrie inversă se regăsește la nivelul acțiunii AMPc și GMPc în metabolismul celular, fapt ce demonstrează complexitatea fenomenelor ce se desfășoară în celulă la nivel molecular.

Prin utilizarea metodei izotopilor radioactivi și a altor metode moderne de investigație biochimică, în ultimul timp s-au adus dovezi concludente privind implicarea unor hormoni în modificarea activității genelor, fenomen ce reprezintă un alt mecanism posibil de acțiune hormonală. Cele mai concludente rezultate experimentale se referă la acțiunea hormonilor steroidici și tiroidieni la nivelul expresiei genice.

Spre deosebire de bacterii, în celulele animale, cantitatea de ADN este net superioară. Acesta prezintă multe secvențe repetitive și, în același timp, secvențe nucleotidice extrem de variate, al căror rol rămâne încă neelucidat. Moleculele de ADN interacționează cu histonele, fenomen conservat pe scara evolutivă a eucariotelor, dar și cu un mare număr de

proteine non-histonice, fapt ce nu și-a găsit încă o explicație funcțională satisfăcătoare. În mod similar, multitudinea tipurilor de *ARN-* și *ADN-polimeraze* nu poate fi încă pe deplin justificată.

Spre deosebire de hormonii ce acționează la nivel membranal prin creșterea nivelului de AMPc și a vitezei de fosforilare a proteinelor, la hormonii steroidici și tiroidieni se observă un răspuns tardiv, ce se percepe abia după câteva ore. Acest răspuns este, însă, de mai lungă durată și se manifestă prin accelerarea biosintezei de ARN și, respectiv, a proteinelor corespunzătoare. Studiul acestor aspecte s-a făcut cu ajutorul unor compuși cu acțiune antimetabolică, chiar dacă aceștia dau indicații indirecte asupra fenomenelor studiate.

Puromicina și cicloheximida, care inhibă biosinteza proteică la nivelul translației, suprimă răspunsul hormonilor tiroidieni și steroidici. Aceleași rezultate au fost obținute și prin utilizarea actinomicinei D care intervine la nivelul transcripției. Experimentele *in vitro* efectuate cu α -amanitină (care, de asemenea, inhibă biosinteza ARN-ului și care prezintă afinitate față de *polimeraza B*) și nuclee izolate din celulele țintă ale hormonului sau ale complexului hormon-receptor, indică o stimulare a biosintezei ARN-ului. Se poate face, astfel, o legătură de cauzalitate între receptori și răspunsul celulei la stimulul hormonal.

Rezumând cele afirmate mai sus, se pot desprinde o serie de concluzii certe, verificate experimental, atât *in vitro* cât și *in vivo*:

- hormonii sunt mesageri chimici sintetizați și secretați de glandele endocrine. Ei sunt transportați, în principal, pe cale sanguină către organele țintă unde sunt recunoscuți de către receptorii specifici;

- structura chimică a hormonilor este extrem de heterogenă, ei putând fi derivați de la aminoacizi, polipeptide sau proteine (holo- și glicoproteine) și steroidici. În țesuturile glandulare, unii hormoni polipeptidici și proteici sunt sintetizați sub forma unor precursori inactivi numiți **pre-hormoni**. Aceștia sunt converși în hormoni activi prin clivare enzimatică. Se cunosc și unii pre-hormoni steroidici care, după intrarea în circulația sanguină, sunt transformați în hormoni activi (în organe „intermediare”), după care ajung la organele țintă;

- biosinteza și secreția hormonilor se află sub controlul sistemului nervos central. Există patru hormoni hipofizari glandotropi (TSH, LH, FSH și ACTH) a căror biosinteză este controlată de hormonii reglatori corespunzători din hipotalamus (**Releasing hormones – RH sau liberine**) și anume T-RH, LH-RH, FSH-RH și C-RH. Secreția hormonilor steroidici și tiroidieni este controlată prin mecanism *feed back* la nivelul hipotalamusului și hipofizei.

Secreția altor hormoni hipofizari (GH, PRL și MSH) este inhibată de către hormonii corespunzători din hipotalamus (**inhibitor hormones – IH** sau **statine**). Vasopresina și ocitocina (secretate de lobul posterior al hipofizei), precum și adrenalina (medulo-suprarenală) sunt **neuro-hormoni**. Insulina și glucagonul (sintetizați în pancreas), calcitonina și aldosteronul fac parte din **sistemul hormonal periferic**, iar secreția lor este controlată (*feed back*) de produșii activității lor metabolice;

- în sânge, hormonii tiroidieni și steroidici interacționează cu proteinele specifice de transport. O parte din hormonii existenți în circuitul sanguin suferă procese de degradare catabolică, în special în hepatocite;

- la nivelul celulelor țintă, hormonii interacționează cu receptorii lor specifici (**R**) în mod selectiv. Rolul acestora constă și în generarea răspunsului celular datorită capacității lor de a interacționa cu efectorii (**E**). Acest lucru este posibil deoarece hormonul este capabil să controleze situsul **r** al receptorului față de care prezintă o afinitate relativ crescută. Transmiterea mesajului la nivelul situsurilor **e** determină răspunsul corespunzător emis de efectorul **E**;

- receptorii hormonilor steroidici și tiroidieni sunt intracelulari. Hormonii steroidici interacționează cu receptorii lor specifici în citoplasma celulelor țintă, fiind astfel activați, iar complexii **H–R** migrează în nucleu unde interacționează cu structuri acceptoare a căror natură nu este încă definitiv elucidată.

În urma acestor interacțiuni, are loc o intensificare a biosintezei ARN (în special ARNm), cu repercusiuni asupra vitezei de biosinteză a proteinelor. În continuare, acest efect se manifestă printr-o hipertrofie celulară. Aceasta înseamnă că răspunsul la acțiunea hormonilor steroidici implică modificări profunde la nivelul transcripției genice;

- receptorii hormonilor polipeptidici și proteici sunt de tip membranar. Situsurile **r** ale acestora sunt localizate la suprafața externă a membranelor celulare. În unele cazuri, efectorul **E** poate fi o enzimă membranară (**adenilat-ciclaza**) sau un ionofor. AMPc produs în exces sub acțiunea **adenilat-ciclazei** activate reprezintă al doilea mesager. La rândul său, el activează **protein-kinazele**, accelerând fosforilarea proteinelor.

2. HORMONII VERTEBRATELOR

Cel mai bine studiați sub aspectul structurii chimice, rolului biologic, metabolismului, mecanismului de acțiune și efectelor de hipo- și hipersecreție sunt hormonii vertebratelor.

În cele ce urmează, vom analiza acești hormoni într-o ordine ce are drept criteriu de clasificare natura chimică și glanda secretoare.

2.1. Hormonii cu structură polipeptidică și proteică

Principalii hormoni cu structură polipeptidică și proteică sunt cei sintetizați și secretați de hipotalamus, hipofiză, pancreasul endocrin și glandele paratiroide.

2.1.1. Hormonii reglatori ai hipotalamusului

La toate vertebratele, hipotalamusul reprezintă centrul de coordonare a numeroase funcții vitale ale organismului. Multiple studii neurofiziologice au demonstrat faptul că hipotalamusul joacă un rol esențial în controlul temperaturii corpului, a presiunii sanguine, senzației de foame și sete, a emoțiilor (în special a celor datorate agresivității și comportamentului sexual), somnului etc.

În afară de aceste funcții, hipotalamusul mai îndeplinește și un rol endocrin. El secretă o serie de hormoni cu structură oligopeptidică care stimulează sau inhibă secreția hormonilor de către alte glande. Hormonii din hipotalamus, al căror rol constă în stimularea secreției altor hormoni, se numesc **liberine (releasing hormones – RH)**, iar cei cu acțiune contrară (deci care inhibă secreția altor hormoni) se numesc **statine (inhibiting hormones – IH)**.

Secreția de ACTH (corticotropină) este reglată de un hormon din hipotalamus – **corticoliberina (corticotropin releasing hormon, C-RH)**, iar hormonul foliculostimulant (FSH) și cel luteinizant (LH) se află sub

controlul liberinelor corespunzătoare: **FSH-RH** și respectiv **LH-RH**. În mod similar, secreția hormonului de creștere (**GH**), numit și somatotropină este controlată de somatoliberină (**GH-RH**), respectiv somatostatina (**GH-IH**) (Barron et al., 1985).

Și secreția de prolactină este controlată de doi hormoni reglatori din hipotalamus: prolactoliberina (**PRL-RH**) și, respectiv, prolactostatina (**PRL-IH**). Producerea hormonului tireotrop (tireotropina) este stimulată de tiroliberină (**T-RH**), iar cea a hormonului melanocito-stimulator (melanotropina) se află sub controlul melanoliberinei (**M-RH**) și, respectiv, a melanostatinei (**M-IH**). Principalele cercetări ce se efectuează actualmente în domeniul hormonilor reglatori ai hipotalamusului se referă la separarea și purificarea acestor hormoni, studiul structurii și al mecanismului lor de acțiune.

Primele cercetări în acest sens au debutat în anii '50 ai secolului XX când s-a purificat corticoliberina (**C-RH**). Încă înainte ca acest hormon să fie izolat, s-a demonstrat existența unui factor, altul decât vasopresina, ce controlează secreția de ACTH.

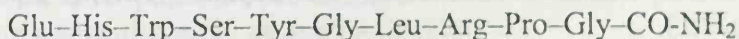
Studiile privind purificarea **C-RH** au fost extrem de dificile din cauza complexității metodelor de dozare și evaluare a activității acestui hormon. După câțiva ani de intense cercetări, *A. Schally* și *R. Guillemin* reușesc, în 1969, să purifice și să elucideze structura tiroliberinei (*Thyrotropin Releasing Hormone* — **T-RH**) care s-a dovedit a fi o tripeptidă:



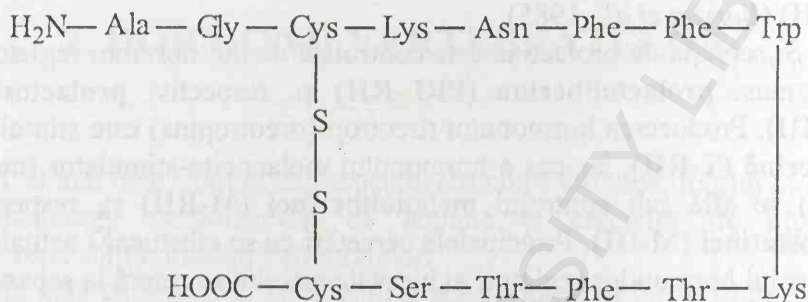
Principala funcție biologică a tiroliberinei constă în stimularea secreției de tireotropină (**TSH**) și prolactină (**PRL**) de către adenohipofiză. Atât **TSH**, cât și **TRH** sunt implicate în stimularea captării iodului, a biosintezei hormonilor tiroidieni și de introducerea acestora în circulația sanguină. Tiroliberina a mai fost identificată și în alte zone ale creierului, precum și în tractul digestiv și pancreas.

Preparatele farmaceutice de tiroliberină se utilizează, în practica medicală, în testele de diagnosticare a maladiilor tiroidei, precum și în tratamentul acromegaliei.

În 1973, s-a izolat liberina hormonului luteinizant (**LH-RH**) din hipotalamusul de porc, iar un an mai târziu *Schally, A. et al.* îi stabilesc structura sa decapeptidică. Aceeași structură o prezintă și hormonul izolat din hipotalamusul de oaie:



Recent, a fost izolată somatostatina (GH-IH) care s-a dovedit a avea o structură tetradecapeptidică:



Somatostatina este secretată sub formă de monomer (14 resturi de aminoacizi), dar s-ar părea că poate exista și sub formă de dimer (cu 28 resturi de aminoacizi). Cercetări recente (2007) atestă faptul că somatostatina mai poate fi secretată de celulele δ din stomac, precum și de intestin și pancreas. Acest hormon îndeplinește o multitudine de funcții, toate acțiunile sale fiind de inhibiție:

- inhibarea secreției de somatotropină și tireotropină de către adenohipofiză;
- inhibarea secreției hormonilor gastro-intestinali (gastrina, colecistokina, secretina, motilina, peptida intestinală vasoactivă, peptida gastrică inhibitoare, enteroglucagonul etc.);
- prelungirea contracției vezicii biliare și a mobilității intestinale;
- inhibarea secreției hormonilor pancreatici (insulina și glucagonul);
- inhibarea activității pancreasului exocrin.

În practica medicală, se utilizează un analog sintetic al somatostatinei cunoscut sub denumirile comerciale de *Sandostatin*[®] și *Ocréotide*[®]. Acest preparat este o octapeptidă cu efecte inhibitoare mult mai puternice decât ale somatostatinei asupra secreției hormonului de creștere, glucagonului și insulinei. De aceea, se utilizează în medicină la tratamentul unor afecțiuni hormonale hipofizare (cum ar fi, de exemplu, acromegalia) sau pancreatice (așa-numitele tumori neuro-endocrine ca, de exemplu, insulinomul).

Liberina hormonului luteinizant stimulează secreția acestuia (LH), precum și a hormonului foliculo-stimulant (FSH), în timp ce tiroliberina stimulează secreția hormonului tireotrop (tireotropina – TSH) și a prolactinei (PRL) (fig. 2.1).

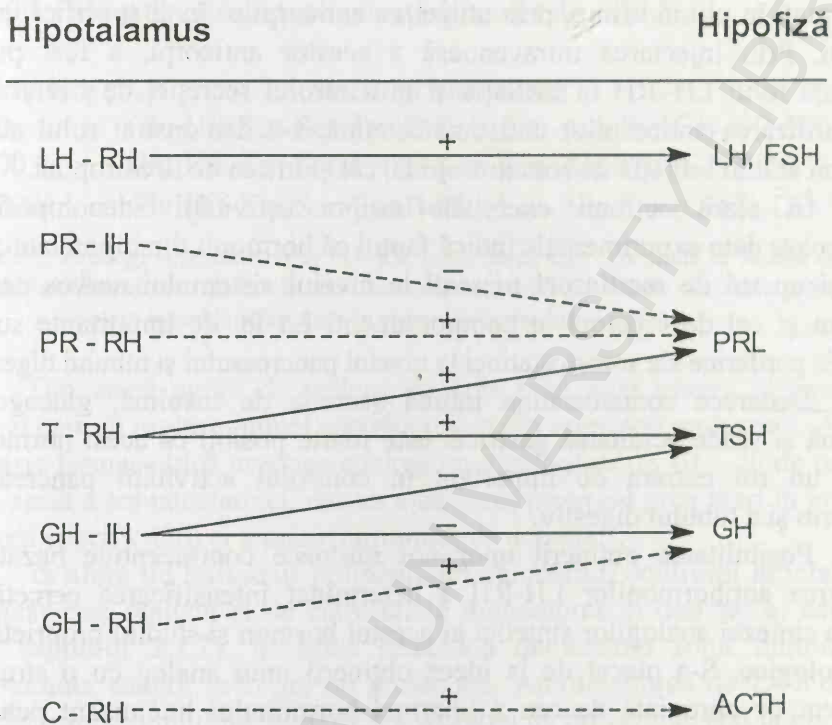


Figura 2.1. Reprezentarea schematică a acțiunii hormonilor din hipotalamus asupra hormonilor adeno-hipofizari.

Liberinele sunt notate cu (+), iar statinele cu (-). Prin linie continuă este redată acțiunea hormonilor a căror structură este elucidată, în timp ce liniile punctate redau acțiunea acelor hormoni a căror existență este demonstrată prin acțiunea lor fiziologică, dar care încă nu au fost izolați (după Labrie, F. et al., 1976).

În ceea ce privește somatostatina (GH-IH), ea inhibă secreția hormonului de creștere (somatotropină). În același timp, însă, ea manifestă un efect inhibitor și asupra secreției de tireotropină, având, deci, un efect opus tiroliberinei.

Prin adăugarea într-o cultură de celule adenohipofizare de șobolan a somatostatinei, s-a observat o inhibiție a biosintezei de somatotropină și tireotropină în proporție de 80% și, respectiv, 70%. În același timp, însă, s-a observat și o diminuare a secreției de prolactină cu 50%.

Acest efect nu a fost, însă, observat la om, din care cauză se consideră ca fiind puțin probabilă manifestarea vreunei acțiuni fiziologice importante a somatostatinei asupra prolactinei.

Rolul fiziologic al hormonilor reglatori ai hipotalamusului a fost confirmat, în ultimul timp, prin utilizarea anticorpilor înalt specifici față de aceștia. Prin injectarea intravenoasă a acestor anticorpi, a fost pus în evidență rolul LH-RH în ovulație și în controlul secreției de LH și FSH. Prin utilizarea anticorpilor antisomatostatina, s-a demonstrat rolul acestui hormon atât în secreția de somatotropină, cât și în cea de tireotropină.

În afara acțiunii exercitate asupra activității adenohipofizare, numeroase date experimentale indică faptul că hormonii din hipotalamus pot juca și un rol de **mediatori neurali** la nivelul sistemului nervos central, precum și cel de **efectori** în comportament. La fel de importante sunt și efectele periferice ale somatostatinei la nivelul pancreasului și tubului digestiv.

Deoarece somatostatina inhibă secreția de insulină, glucagon și gastrină și scade aciditatea gastrică, este foarte posibil ca acest hormon să joace un rol extrem de important în controlul activității pancreasului endocrin și a tubului digestiv.

Posibilitatea obținerii unor noi mijloace contraceptive bazate pe utilizarea antihormonilor LH-RH a determinat intensificarea cercetărilor asupra sintezei analogilor sintetici ai acestui hormon și studiul proprietăților lor biologice. S-a plecat de la ideea obținerii unui analog cu o structură suficient de apropiată de cea a liberinei hormonului luteinizant pentru a asigura recunoașterea situsului receptor de la suprafața celulelor ce secretă LH și FSH și, în același timp, suficient de diferită de structura LH-RH pentru a nu declanșa secreția de gonadotropine. Teoretic, acești analogi ar trebui să manifeste o acțiune limitată, fără a da efecte secundare periferice.

Actualmente, cei mai cunoscuți antagoniști ai LH-RH sunt cei în care restul His_2 este înlocuit cu un rest de D-Phe, iar Gly_6 este înlocuit cu un rest de D-Phe sau D-Leu. Astfel, $(\text{D-Phe}_2, \text{D-Phe}_6)\text{-LH-RH}$ inhibă *in vitro* în proporție de 50% activitatea LH-RH, într-o concentrație a analogului de 25 de ori mai mare decât cea a hormonului natural. După obținerea $(\text{D-Phe}_2, \text{D-Phe}_6)\text{-LH-RH}$ au fost obținuți și alți analogi, mult mai activi (fig. 2.2). În ultimul deceniu, s-au intensificat cercetările privind obținerea analogilor LH-RH cu acțiune de lungă durată (**LH-RH retard**) în vederea utilizării lor terapeutice în tratamentul hipogonadismului la ambele sexe.

În mod similar, au fost obținuți și analogii altor hormoni. Astfel, prin adăugarea unui radical metil la restul de histidină din molecula tiroliberinei s-a obținut un analog de aproximativ 10 ori mai activ decât T-RH. Deoarece somatostatina inhibă secreția hormonului de creștere, TSH, insulinei,

glucagonului și gastrinei, cercetările privind obținerea pe cale sintetică a analogilor săi activi au avut o motivație practică deosebită.

Activitate (%)	Analogi hormonal
300	Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Leu-Leu-Arg-Pro-Gly-CO-NH ₂
3000	Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Leu-Leu-Arg-Pro-(CH ₂) ₂ -CO-NH ₂
10000	Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Phe-Leu-Arg-Pro-(CH ₂) ₂ -CO-NH ₂

Figura 2.2. Analogi superreactivi ai LH-RH (activitatea este exprimată în % față de cea a hormonului natural considerată în mod convențional ca fiind 100%. Cu litere groase sunt notate resturile substituie în structura hormonului natural).

Din acest punct de vedere, studiile s-au axat asupra obținerii de analogi care să regleze numai secreția unuia din hormonii enumerați. Astăzi, industria farmaceutică produce analogi cu o activitate de 10 – 20 de ori mai mare decât a somatostatinei, dar nu s-au făcut progrese prea mari în privința creșterii specificității și a măririi timpului de acțiune.

În afară de hormonii polipeptidici enumerați, controlul hipotalamo-hipofizar este realizat și de către unele monoamine și derivați ai acestora (vezi capitolul 2.2.2). În acest sens, s-a demonstrat rolul inhibitor al DOP-aminei asupra secreției de prolactină. Administrarea de L-DOPA *in vivo* determină o inhibiție puternică a secreției de prolactină, atât la om cât și la animalele de experiență. Acest efect inhibitor poate fi cauzat de o creștere a secreției de PRL-IH de către hipotalamus și/sau o acțiune inhibitoare directă a monoaminei asupra celulelor mamotrope ale adenohipofizei.

În urma unor studii imuno-histochimice care au arătat o concentrare a terminațiilor nervoase dopaminergice într-o regiune bogată în neuroni ce conțin LH-RH, a mai fost sugerată o acțiune a DOP-aminei în controlul secreției de LH-RH. *Fuxe et al.* indică faptul că secreția de LH-RH este inhibată de DOP-amină și stimulată de noradrenalină. S-a mai observat și un efect inhibitor al serotoninei asupra secreției de LH-RH, precum și un efect stimulator al acetilcolinei asupra secreției de vasopresină. În 1976, *Labrie et al.* arată că administrarea de prostaglandine E la șobolan stimulează secreția de LH-RH și T-RH, fenomen însoțit de o creștere a nivelului LH, FSH, TSH și prolactinei.

Această eliberare de LH-RH și T-RH este însoțită de o creștere a concentrației AMPc în eminența mediană. Aceste date experimentale lasă să se întrevadă un posibil rol al prostaglandinelor și AMPc în controlul secreției de hormoni hipofizotropi de către hipotalamus.

2.1.2. Hormonii hipofizei

La majoritatea speciilor, hipofiza este alcătuită din trei părți componente ce funcționează independent: lobul anterior sau adenohipofiza (*pars distalis*), lobul intermediar (*pars intermedia*) și lobul posterior sau neurohipofiza (*pars tuberalis* sau *pars nervosa*).

2.1.2.1. Hormonii adenohipofizei

Adenohipofiza secretă șase hormoni cu structură polipeptidică: hormonul de creștere sau hormonul somatotrop (*somatotropic hormone* – STH sau *growth hormone* – GH), prolactina – PRL (*luteotropic hormone* – LTH), numită și hormon lactogen, mamotrop sau lactotrop, doi hormoni gonadotropi sau sexotropi și anume hormonul foliculostimulant (*folicle stimulating hormone* – FSH) și hormonul luteinizant (*luteinizing hormone* – LH), hormonul tireotrop sau tireotropina (*thyreostimuline* – TSH) și hormonul adrenocorticotrop sau corticotropina (*adrenocorticotrophic hormone* – ACTH).

2.1.2.1.1. Hormonul de creștere

Hormonul de creștere sau somatotropina (*somatotropic hormone* – STH, *growth hormone* – GH) este o polipeptidă secretată de celulele α ale adenohipofizei și are o masă moleculară de 20 kDa. Structura primară a somatotropinei umane este cunoscută (fig. 2.3). Ea este reprezentată de o catenă polipeptidică ce conține 191 resturi de aminoacizi și două punți disulfidice: Cys₅₃-Cys₁₆₅ și, respectiv, Cys₁₈₂-Cys₁₈₉.

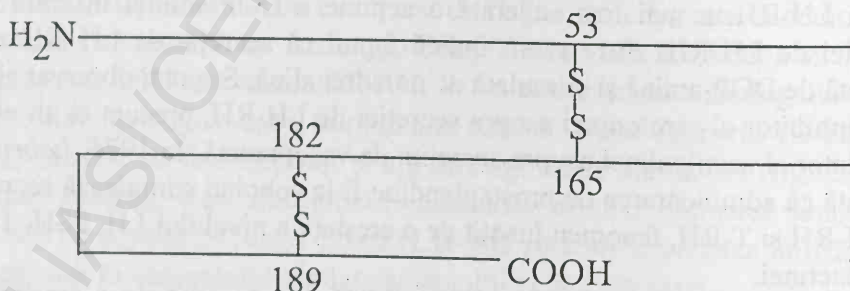


Figura 2.3. Reprezentarea schematică a structurii somatotropinei.

Somatotropina este sintetizată sub forma unui pre-hormon inactiv ce conține 217 resturi de aminoacizi. Conversia precursorului inactiv în

somatotropină activă se realizează prin clivarea unui fragment ce conține 26 resturi de aminoacizi.

Secvența în aminoacizi a somatotropinei umane este foarte apropiată de cea a hormonului lactogen placentar (85% dintre resturile de aminoacizi sunt identice) și foarte apropiată de cea a prolactinei (32% identitate).

Creșterea organismului uman și al celorlalte vertebrate depinde de o multitudine de factori: zestrea ereditară, sistemul hormonal, alimentația, mișcarea etc., toți aceștia influențând creșterea copilului de la naștere până la vârsta adultă.

Un rol cheie al acestui proces îl joacă factorul de eliberare a hormonului de creștere cunoscut și sub numele de factor de reglare a creșterii (**GH – RH** sau **GRF**), secretat de către hipotalamus. Acest mesager chimic stimulează secreția de către adenohipofiză a somatotropinei (hormonul de creștere – **GH**) ca principal factor ce reglează creșterea organismului și diviziunea celulară la om și celelalte vertebrate (*Hau et al.*, 2007).

Funcțiile biochimice și fiziologice ale somatotropinei sunt extrem de complexe dat fiind faptul că hormonul de creștere nu are un organ țintă specific, el stimulând toate țesuturile. GH este un hormon deosebit de activ în stimularea și reglarea creșterii organismului, din care cauză se mai numește și hormon de creștere.

Efectele cele mai pregnante se manifestă în osteogeneză, la nivelul cartilajelor. De aceea, în hipersecreția de somatotropină apare boala numită **gigantism** care se manifestă prin creșterea exagerată a oaselor lungi și a coloanei vertebrale.

Dacă hipersecreția debutează după pubertate, când este încheiată creșterea staturo-ponderală, apare boala numită **acromegalie** ce se manifestă prin creșterea în volum a limbii, îngroșarea pielii, creșterea urechilor, precum și prin creșterea în volum a organelor interne.

Somatotropina mai prezintă și alte efecte metabolice. În primul rând, ea prezintă o acțiune puternică de accelerare a biosintezei proteice prin favorizarea transportului intracelular de aminoacizi. Această funcție este corelată cu cea a insulinei. Efectul somatotropinei asupra proteinelor se realizează, în principal, prin menajarea proteolizei și stimularea procesului biosintetic ca urmare a diminuării catabolismului aminoacizilor.

Cercetările efectuate în ultima vreme atestă faptul că somatotropina intervine și în alte etape ale biosintezei proteinelor, în primul rând în biosinteza ARNm și, apoi, în citoplasmă, a ARNr.

Hormonul de creștere intervine și în metabolismul glucidic, fiind din acest punct de vedere un hormon hiperglicemiant, diabetogen, datorită

faptului că intensifică secreția de glucagon. În ceea ce privește metabolismul lipidelor, somatotropina accelerează degradarea acestora în scop energetic, fapt ce determină creșterea concentrației acizilor grași liberi. GH mai limitează conversia glucidelor în lipide și mărește rezerva de colesterol hepatic.

În ceea ce privește acțiunea somatotropinei asupra sistemului osos, s-au adus dovezi asupra faptului că acest hormon stimulează biosinteza acizilor condroitinsulfurici care reprezintă suportul necesar formării țesuturilor cartilaginose și apoi a țesutului osos.

GH nu este implicat numai în reglarea procesului de creștere a organismului. Somatotropina mai influențează procesele de reglare a reproducerii, atât la masculi cât și la femele. La masculi, GH manifestă o serie de acțiuni extra-gonadale printre care se numără creșterea și menținerea taliei penisului, diferențierea canalelor spermatice în adolescență și stimularea biosintezei enzimelor în glandele anexe (veziculele seminale și prostată), stimularea spermatogenezei și a mobilității spermatozoidelor, stimularea sintezei hormonilor androgeni etc.

La femele, somatotropina stimulează biosinteza hormonilor steroidici, induce ovulația, stimulează creșterea foliculară și maturarea nucleară și citoplasmatică a ovocitului. Printre efectele extra-gonadale, se numără stimularea activității secretoare a celulelor epiteliale ale tractului genital femel, a creșterii placentare și a lactației. Toate aceste acțiuni ale somatotropinei asupra procesului de reproducere se realizează indirect, prin mecanisme fine, încă incomplet elucidate.

Somatotropina nu acționează direct asupra celulelor țintă. Acest hormon este implicat în biosinteza și acțiunea unor factori de origine hepatică numiți **somatomedine**. Acestea au o compoziție în aminoacizi apropiată de cea a insulinei, fiind codificate **IGF** (*insulin-like growth factors*) și sunt vehiculate de către sânge cu ajutorul unei proteine specifice de transport. Principalele somatomedine sunt **IGF₁** sau somatomedina A și **IGF₂** sau somatomedina C.

Mecanismul intim de legare a hormonului la nivelul celulelor țintă nu este încă pe deplin elucidat. Se cunoaște doar faptul că receptorul specific pentru somatotropină este comun cu cel al prolactinei și este reprezentat de o glicoproteină cu masa moleculară de 42 kDa ce conține o singură catenă polipeptidică. Acest receptor a fost identificat în majoritatea țesuturilor, fără a fi însă elucidat mecanismul cuplării lui cu somatotropina.

Somatotropina intră în compoziția unor preparate farmaceutice utilizate ilegal de către unii sportivi pentru creșterea performanțelor (dopaj).

În ultimii ani, în societățile „de consum” și mai ales în societatea americană, se observă o creștere îngrijorătoare a consumului pe bază de preparate de somatotropină în calitate de „agent anti-îmbătrânire”. Într-adevăr, aceste preparate determină o scădere nesemnificativă a masei țesutului adipos.

În schimb, apar o multitudine de efecte secundare: edeme, dureri articulare, creșterea sânilor la bărbați, creșterea pericolului apariției diabetului zaharat etc.

2.1.2.1.2. Prolactina

Prolactina (PRL) sau hormonul luteotrop (LTH – *luteotropic hormone*) mai este cunoscută și sub denumirile de hormon **lactogen**, hormon **mamotrop** sau hormon **lactotrop**. Acest hormon este secretat de către celulele η ale adenohipofizei, iar din punct de vedere structural este o proteină cu masa moleculară de 23 kDa. Secvența în aminoacizi a prolactinei a fost determinată pentru hormonul uman (ce conține 199 resturi de aminoacizi), oaie, bou și porc. Secvențele identice ale prolactinei acestor specii reprezintă aproximativ 70%.

Structura primară și mecanismul de acțiune al prolactinei sunt foarte apropiate de cele ale hormonului de creștere și ale hormonului placentar (HPL), ceea ce sugerează o evoluție cu plecare de la un precursor comun. Alături de prolactina „normală”, au mai fost identificate două forme polimerice cu o activitate biologică mult mai mică: **big prolactin** și **big big prolactin**.

Prolactina este sintetizată sub forma unui precursor inactiv alcătuit din 228 resturi de aminoacizi (la om) în care predomină acidul aspartic și acidul glutamic (aproximativ 14% din masa sa moleculară). Conversia pre-hormonului în prolactină activă se realizează prin clivarea unui fragment conținând 29 resturi de aminoacizi de la extremitatea N-terminală.

La om, perioada de înjumătățire a prolactinei este de 30 minute, iar concentrația sa plasmatică este de aproximativ 20 ng/ml la femei și sub 15 ng/ml la bărbați. De remarcat este faptul că, la femei, concentrația plasmatică a prolactinei nu crește spectaculos în timpul sarcinii, ea crescând doar până la 100 ng/ml începând cu săptămâna a 8-a.

Rolul biologic al prolactinei este extrem de complex și divers. În primul rând, PRL stimulează secreția de progesteron de către corpul galben înainte ca acesta să fie înlocuit de hormonul luteotrop secretat de placentă. La toate mamiferele, prolactina acționează asupra glandei mamare, stimulând atât dezvoltarea ei morfologică, cât și secreția de lapte.

Din punct de vedere metabolic, prolactina manifestă o acțiune hiperglicemiantă, respectiv diabetogenă, efect care se corelează cu acțiunea de favorizare a producerii lactozei în glanda mamară în perioada de lactație. Prolactina declanșează instinctul matern, iar hipersecreția sa determină apariția psihozei de lactație.

Secreția de prolactină se află sub un dublu control. Ea este stimulată de către **PRF** (*Prolactine Releasing Factor*) și de **TRH** (*Thyroid Releasing Hormone*) și inhibată de către **PIF** (*Prolactine Inhibiting Factor*) care este de fapt DOP-amina.

Prolactina interacționează cu același receptor glicoproteic ca și somatotropina. Ca și în cazul triiodtironinei (T_3) și a hormonilor estrogeni, prolactina stimulează geneza propriilor receptori, în timp ce androgenii și progesteronul o inhibă. Această acțiune explică faptul că lactația nu debutează în timpul sarcinii în pofida nivelului ridicat de prolactină.

Receptorii membranari ai prolactinei sunt prezenți atât în celulele glandelor mamare, cât și ale ovarului, testiculelor și uterului. Hormonul interacționează mai întâi cu un receptor, apoi cu un al doilea, prin intermediul a două situsuri diferite de legare.

Acest fenomen conduce la o „dimerizare” a receptorilor și atragerea a două proteine citoplasmatiche de tipul *tirozin-kinazei* care se activează reciproc. Aceste proteine favorizează alte molecule țintă intracelulare printre care se numără și factorii de transcripție care sunt implicați în expresia genelor.

2.1.2.1.3. Hormonii gonadotropi

Adenohipofiza secretă o serie de hormoni cu structură glicoproteică pe măsura maturizării sexuale. Principala lor funcție constă în controlul creșterii și dezvoltării glandelor sexuale masculine și feminine, din care cauză ei se mai numesc și **hormoni sexotropi**. Secreția hormonilor gonadotropi se realizează continuu la masculi și ciclic la femele.

Din punct de vedere funcțional, hormonii gonadotropi se deosebesc net de cei sexuali deoarece ei stimulează activitatea glandelor genitale fără deosebire de sex.

Hormonii gonadotropi sunt glicoproteine cu molecula alcătuită din două subunități notate α și β și prezintă proprietăți structurale comune cu hormonul tireotrop și gonadotropinele corionice.

a. Hormonul foliculostimulant-FSH (*Follicle Stimulating Hormone*)

FSH este secretat de celulele β ale adenohipofizei. Din punct de vedere structural, hormonul foliculostimulant diferă de la o specie la alta.

Astfel, masa sa moleculară este de 20 kDa în cazul hormonului din adenohipofiza de porc și 29 kDa în cazul hormonului uman.

Perioada de înjumătățire este de aproximativ 170 minute, iar concentrația plasmatică normală oscilează între 2 – 5 mU.I./ml, dar urcă până la 10 mU.I./ml în momentul ovulației.

La femele, FSH stimulează creșterea și maturarea foliculilor Graff până în momentul ovulației, intervine în secreția hormonilor estrogeni și formarea corpului galben.

Prin stimularea secreției de estradiol, FSH manifestă o acțiune indirectă „foliculinică” asupra tractului genital, în special asupra uterului și vaginului. De asemenea, stimulează celulele tecale interne care sintetizează enzima numită *aromatază* implicată în conversia androgenilor în hormoni estrogeni.

La masculi, hormonul foliculostimulant manifestă o acțiune de stimulare a dezvoltării tubilor seminiferi și activare a spermatogenezei.

b. Hormonul luteinizant – LH (*Luteinizing Hormone*) sau ICSH (*Interstitial Cells Stimulating Hormone*)

Hormonul luteinizant este secretat de către celulele γ ale adenohipofizei și este o glicoproteină cu masa moleculară de 28 – 30 kDa. Molecula hormonului luteinizant este formată din două subunități notate cu α și β , fiecare cu masa moleculară de 15 kDa. În subunitatea α , componenta glucidică este alcătuită din două catene N-oligozaharidice a câte 2,5 kDa fiecare și o catenă polipeptidică cu 92 – 96 resturi de aminoacizi în funcție de specie. Subunitatea α este comună mai multor hormoni polipeptidici (FSH, TSH și HCG).

Subunitatea β este responsabilă de specificitatea de acțiune a hormonului care se manifestă, însă, numai atunci când cele două subunități sunt asociate prin interacțiuni slabe, necovalente.

Din punct de vedere structural, subunitatea β este reprezentată de o catenă polipeptidică ce conține 117 – 120 de resturi de aminoacizi în funcție de specie și o singură catenă N-oligozaharidică cu masa moleculară de aproximativ 2,5 kDa. Are perioada de înjumătățire de aproximativ 50 minute, iar concentrația sanguină normală este de 2 – 5 mU.I./ml, dar crește la 16 – 25 mU.I./ml în timpul ovulației.

La femele, hormonul luteinizant provoacă ovulația și stimulează formarea corpului galben prin acumularea de carotenoizi. El se găsește în ambele faze ale ciclului genital și stimulează maturarea foliculilor cu

secreția corespunzătoare de hormoni estrogeni, în special progesteron și estradiol.

Efectul este amplificat după ovulație când celulele foliculare, devenite luteinice, sunt hipersecretoare. Secreția combinată de estradiol și progesteron favorizează nidația ovulului în uter. La masculi, hormonul luteinizant stimulează secreția testosteronului de către celulele interstițiale ale testiculelor (celulele Leydig).

Odată secretat, testosteronul acționează, pe de o parte, asupra celulelor Sertoli care formează bariera hemato-testiculară a tubilor seminiferi (celulele Sertoli fiind celule somatice care joacă un rol central în reglarea spermatogenezei), iar, pe de altă parte, acționează la nivel hipotalamo-hipofizar în sensul controlării secreției hipofizare de hormon luteinizant (acțiune de tip *feed-back*).

Mecanismul de acțiune a hormonului luteinizant este AMPc-dependent, însă structura chimică a receptorului specific nu este pe deplin elucidată. El poate avea o structură variabilă la diferite specii, având masa moleculară cuprinsă între 70 și 200 kDa.

Hormonii placentari

În urina femelelor gestante și a femeilor gravide au fost evidențiați o serie de hormoni cu o acțiune asemănătoare cu cea a hormonilor gonadotropi care au primit numele de **gonadotropine urinare**. Din punct de vedere structural, ei sunt glicoproteine cu mase moleculare de aproximativ 30 kDa cu o structură foarte asemănătoare cu cea a hormonului luteinizant.

În seria gonadotropinelor urinare, cea mai importantă este **gonadotropina umană corionică** (*Human Chorionic Gonadotrophin* – **GCH**) a cărei moleculă conține 231 resturi de aminoacizi și 55 resturi de monoglucide. În afară de GCH, placenta mai secretă și alți hormoni tisulari cum ar fi **hormonul lactogenic placentar (HPL)** și **tireotropina corionică (HCT)**, iar ovarele sintetizează **relaxina**.

Hormonii placentari apar în urină începând cu a 30-a zi de sarcină și ating valorile maxime în luna a III-a (aproximativ în a 70-a zi de sarcină). Funcțiile biochimice și fiziologice ale gonadotropinelor urinare sunt asemănătoare cu cele ale hormonilor gonadali de origine hipofizară.

În cadrul unui ciclu uterin, HCG favorizează implantarea ovulară, iar HPL activează continuu biosinteza și secreția de insulină, chiar și în inaniție. În perioada de sarcină, HPL stimulează acumularea lactozei în lapte acționând ca un factor diabetogen.

Relaxina este un hormon cu structură peptidică secretat de către placentă, dar și de către ovare și țesutul mamar. Ea acționează asupra musculaturii uterului în vederea relaxării acestuia, a ligamentelor pelviene și a simfizei pubiene stimulând astfel expulzarea fătului.

Relaxina mai este secretată și de către testicule, fiind prezentă și în spermă unde favorizează migrarea spermatozoizilor în căile genitale ale femelei.

2.1.2.1.4. *Hormonul tireotrop*

Hormonul tireotrop sau tireotropina (*thyreostimuline* – TSH) este secretat de către celulele δ ale adenohipofizei. Este o glicoproteină cu masa moleculară de 28 kDa, molecula sa conținând 201 resturi de aminoacizi. Timpul de înjumătățire este de aproximativ 60 de minute, iar concentrația plasmatică normală este de aproximativ 3 ng/ml. Principalele acțiuni ale hormonului tireotrop sunt orientate asupra glandei tiroide.

În funcție de efectul produs, hormonul tireotrop este de trei tipuri: hormonul tireotrop de creștere (TSHg) care favorizează creșterea masei celulare a tiroidei, hormonul tireotrop metabolic (TSHm) care stimulează biosinteza hormonilor tiroidieni și EPS, aceasta din urmă formă determinând producerea exoftalmiei. Forma EPS a hormonului tireotrop este reprezentată de o glicoproteină cu masa moleculară de 40 kDa și este produs de adenohipofiza bolnavilor de exoftalmie. Din punct de vedere biochimic, EPS stimulează biosinteza mucopolizaharidelor bogate în sulf.

Hormonul tireotrop mai determină o intensificare a metabolismului bazal cu accelerarea ritmului cardiac, intensificarea respirației, a metabolismului glucidic și proteic etc. La nivelul țesutului adipos, TSH stimulează procesul de lipoliză.

Principala funcție a hormonului tireotrop rămâne, însă, favorizarea fixării iodului plasmatic de către glanda tiroidă și activarea *catepsinei* tiroidiene care realizează proteoliza tiroglobulinei după condensarea derivaților iodurați ai tirozinei cu formarea hormonilor tiroidieni. Mecanismul de acțiune a hormonului tireotrop este AMP_c-dependent.

2.1.2.1.5. *Hormoni derivați de la pre-opiomelanocortină*

Recent, ca urmare a perfecționării metodelor de analiză, s-a demonstrat faptul că celulele corticomelanotrope secretă un precursor de natură proteică numit **pre-opiomelanocortină** ce conține în molecula sa

Secvența de aminoacizi a hormonului corticotrop uman este următoarea:

Ser — Tyr — Ser — Met — Glu — His — Phe — Arg

Lys — Lys — Gly — Val — Pro — Lys — Gly — Trp

Arg — Arg — Pro — Val — Lys — Val — Tyr — Pro

Ala — Ser — Glu — Asp — Glu — Gly — Ala — Asp

Glu — Ala — Phe — Pro — Leu — Glu — Phe — OH

Partea activă a moleculei de ACTH este reprezentată de primii 24 aminoacizi, din care primele 13 resturi corespund secvenței α -MSH, iar succesiunea primelor 16 resturi din catena polipeptidică a ACTH este suficientă pentru determinarea activității steroidogene, în timp ce fragmentul pentapeptidic 6 – 10 determină activitatea melanocitostimulatoare.

În condiții fiziologice normale, concentrația plasmatică a ACTH la adult oscilează între 20 și 50 pg/ml, iar timpul său de înjumătățire este de 15 minute. În insuficiența suprarenală, concentrația de ACTH plasmatic poate crește chiar până la 400 – 600 pg/ml.

Secreția de ACTH nu este uniformă în decurs de 24 de ore, ea oscilând specific în decursul unui ciclu circadian, cu creșteri succesive la fiecare aproximativ 2 ore. La om, concentrația maximă de ACTH se înregistrează imediat înaintea maximului concentrației cortizolului care este dimineata, înainte de trezire (în jurul orelor 6⁰⁰), iar concentrația minimă se înregistrează în jurul orelor 23⁰⁰, înainte de somn.

Spre deosebire de om și majoritatea mamiferelor, la animalele nocturne dinamica concentrației de ACTH este inversă cu un maxim în jurul orei 20⁰⁰ și un minim dimineata, în jurul orei 7⁰⁰.

Aceste date experimentale demonstrează, odată în plus, necesitatea imperioasă a unui regim de viață ordonat, fără prea multe „nopti albe”.

Secreția și eliberarea în circulația sanguină a ACTH se află sub controlul așa-numitului factor corticotropic de eliberare (*corticotropin*

releasing factor – CRF) de natură polipeptidică ce poate fi, de exemplu, Lys_8 – vasopresina sau Arg_8 – vasopresina. Din hipotalamus, au fost izolați doi factori identici din punct de vedere structural cu α -MSH și anume α_1 -MSH și α_2 -MSH (fig. 2.5).

Stimularea secreției de ACTH de către o serie de peptide sintetice (ca, de exemplu, secvența *Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly*) demonstrează faptul că factorii CRF au o structură peptidică relativ simplă.

Funcțiile biochimice și fiziologice ale ACTH sunt extrem de diverse și complexe. Principalul rol al acestui hormon îl constituie acțiunea de stimulare a corticosuprarenalelor care secretă glucocorticosteroizi (cortizol, corticosteron etc.) și, respectiv, hormoni androgeni și estrogeni.

Această funcție este argumentată de faptul că hipofizectomia determină o diminuare cu până la 90% a secreției de glucocorticosteroizi. Pentru realizarea acestei funcții, ACTH nu pătrunde în celulele țintă, ci interacționează cu receptorii membranari specifici prin intermediul cărora declanșează funcționarea sistemului *adenilat-ciclază* – AMPc.

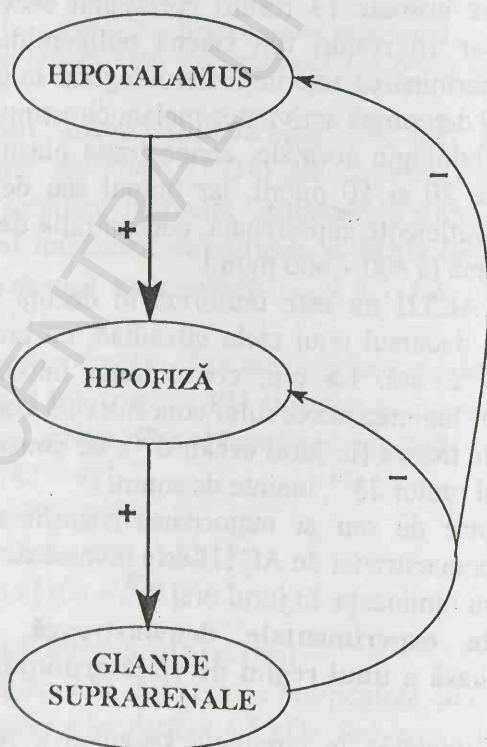


Figura 2.5. Reprezentarea schematică a mecanismului reglării secreției de ACTH.

Mecanismul de acțiune constă în creșterea concentrației intracelulare de AMPc care, la rândul său, determină activarea *fosforilazelor*. Aceste enzime sunt implicate în metabolismul glucozei, iar acțiunea lor este cuplată cu cea a enzimelor NADPH-dependente. În felul acesta, se asigură o importantă sursă energetică pentru biosinteza corticosteroizilor.

Alte funcții ale ACTH constau în stimularea transportului activ al glucozei și accelerarea gluconeogenezei la nivel hepatic, aceasta din urmă fiind însoțită de hiperglicemie și glicozurie. Excesul de glucoză, în acest caz, este datorat accelerării conversiei aminoacizilor și, mai ales, a lipidelor în glucide. ACTH mai îndeplinește și o funcție lipotropă la nivelul țesutului adipos și accelerarea eliminării azotului amoniacal.

b) Hormonul lipotrop

Hormonul lipotrop (*lipotropic hormone* – LPH) există sub două forme:

β – LPH cu masa moleculară de 9,5 kDa care conține în molecula sa 91 resturi de aminoacizi. Fragmentul polipeptidic 41 – 58 corespunde structural în totalitate secvenței polipeptidice a β – MSH, precum și secvenței β – endorfinei. Biosinteza și secreția de β – LPH se face în raport echimolecular cu secreția de ACTH;

γ – LPH este similară cu β – LPH în secvența ce cuprinde primii 48 de aminoacizi. La om, concentrația sa plasmatică se situează între 10 – 40 pg/ml.

β – Endorfina. Această polipeptidă se întâlnește în celulele cortico-melanotrope ale adenohipofizei și în celulele nervoase situate la baza hipotalamusului și este secretată în stres. Rolul biologic al β -endorfinei nu este pe deplin elucidat. Se cunoaște, totuși, faptul că ea stimulează secreția de prolactină care, la rândul ei, va favoriza metabolismul neurotransmițătorilor cerebrali (Hebb et al., 2005). În același timp, β -endorfina inhibă secreția oscilantă a hormonului luteinizant. β -Endorfina mai prezintă și un puternic rol analgezic care are un efect de aproximativ 20 de ori mai mare decât cel al morfinei.

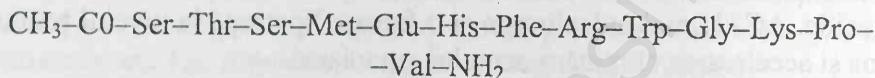
La nivelul axului hipotalamohipofizar au mai fost identificate și alte polipeptide opiacee printre care *dinorfina* și *enkefalinele*. La om, opiaceele inhibă răspunsul ADH la stimulii osmotici.

2.1.2.2. Hormonii hipofizei intermediare

Hormonul melanocitostimulator (*melanocyte stimulating hormone* – MSH) numit și melanotropină sau hormon melanotrop poate exista sub

două forme: α - MSH și β - MSH. Molecula de α -MSH conține 13 resturi de aminoacizi care corespund secvenței 1 – 13 din ACTH, iar β -MSH conține în molecula sa 18 resturi de aminoacizi.

Până în prezent, nu s-a reușit extracția β -MSH din hipofiza umană. Se cunoaște doar faptul că ea conține 22 resturi de aminoacizi. Structura primară a α -MSH este identică cu fragmentul 1 – 13 din molecula de ACTH cu deosebirea că restul Ser₁ este acetilat, iar radicalul Val₁₃ conține o grupare -NH₂ liberă sub forma unei grupe amidice:



Structura primară a β -MSH este total diferită. Există, totuși, un fragment heptapeptidic (secvența 7 – 13) care este identic cu fragmentul 4 – 10 din α -MSH. Structura chimică a β -MSH de porc, bou și cal este următoarea:



Biosinteza și secreția MSH sunt controlate, ca și în cazul altor hormoni, de către hipotalamus prin intermediul liberinei și statinei corespunzătoare (*melanocyte-stimulating hormone releasing hormone* – MSH-RH și respectiv *melanocyte-stimulating hormone* – MSH-IH).

Principala funcție a hormonului melanocitostimulator o constituie stimularea pigmentării pielii, în principal la pești, amfibii și reptile, dar și la mamifere (Reiter et al., 2005). Dat fiind faptul că α -MSH nu există ca un hormon distinct la om, este probabil ca melanodermia în boala Addison să fie cauzată, în principal, de hipersecreția de ACTH.

MSH mai intervine în metabolismul apei la mamiferele care au lobul hipofizar intermediar dezvoltat ca, de exemplu, la rumegătoare. La om, în condiții fiziologice normale, concentrația plasmatică de MSH se situează în jurul valorii de 20 pg/ml (Zhdanova et al., 2001). Hormonul melanocitostimulator reglează pigmentogeneza prin activarea *tirozinazei*, enzimă ce catalizează conversia tirozinei în melanină. Este interesant faptul că doar prima fază a melanogenezei este catalizată enzimatic, celelalte reacții având loc la nivelul pielii în mod spontan (fig. 2.6).

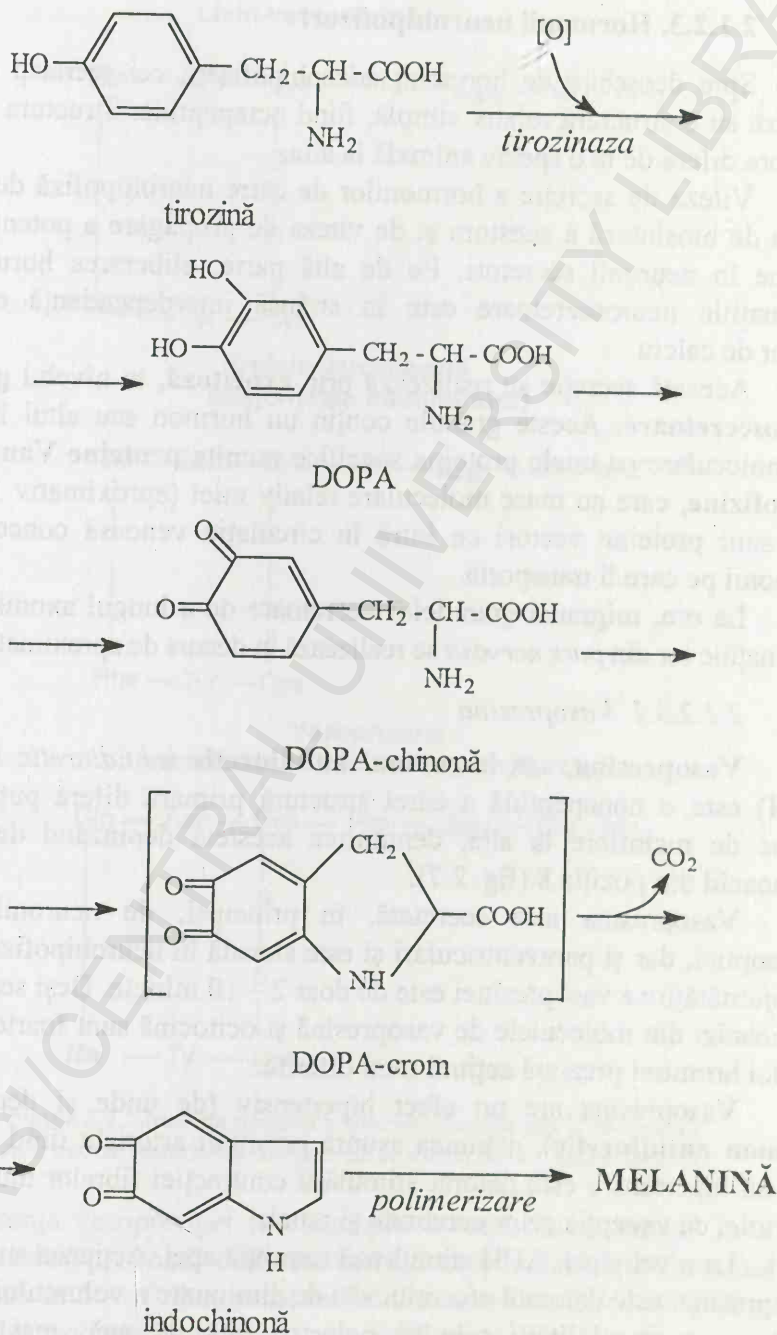


Figura 2.6. Conversia tirozinei în melanină.

2.1.2.3. Hormonii neurohipofizari

Spre deosebire de hormonii adenohipofizari, cei secretați de neurohipofiză au o structură relativ simplă, fiind octapeptide. Structura primară a acestora diferă de la o specie animală la alta.

Viteza de secreție a hormonilor de către neurohipofiză depinde de viteza de biosinteză a acestora și de viteza de propagare a potențialului de acțiune în neuronii secretori. Pe de altă parte, eliberarea hormonilor în terminațiile neurosecrete este în strânsă interdependență cu nivelul ionilor de calciu.

Această secreție se realizează prin **exocitoză**, la nivelul **granulelor neurosecrete**. Aceste granule conțin un hormon sau altul în cantități echimoleculare cu unele proteine specifice numite **proteine Van Dyke** sau **neurofizine**, care au mase moleculare relativ mici (aproximativ 10 kDa) și care sunt proteine vectori ce intră în circulația venoasă concomitent cu hormonii pe care îi transportă.

La om, migrarea granulelor secretoare de-a lungul axonilor până la terminațiile lor din *pars nervosa* se realizează în decurs de aproximativ 12 ore.

2.1.2.3.1. Vasopresina

Vasopresina, sau **hormonul antidiuretic** (*antidiuretic hormone* – **ADH**) este o nonapeptidă a cărei structură primară diferă puțin de la o specie de mamifere la alta, denumirea acesteia depinzând de restul de aminoacid din poziția 8 (fig. 2.7).

Vasopresina este secretată, în principal, de neuronii nucleilor supraoptici, dar și paraventriculari și este stocată în neurohipofiză. Perioada de înjumătățire a vasopresinei este de doar 2 – 10 minute. Deși secvențele de aminoacizi din moleculele de vasopresină și ocitocină sunt foarte apropiate, cei doi hormoni prezintă acțiuni total diferite.

Vasopresina are un efect hipertensiv (de unde și denumirea de **hormon antidiuretic**), acțiunea asupra presiunii arteriale fiind progresivă. Efectul hipertensiv este datorat stimulării contracției fibrelor musculare din arteriole, cu excepția celor cerebrale și renale.

La nivel renal, ADH stimulează resorbția apei. Acțiunea antidiuretică a vasopresinei este datorată efectului său de diminuare a volumului urinei prin creșterea permeabilității tubului colector față de apă, mai exact prin accelerarea sintezei acvaporinei 2 care este un por transmembranar cu deschidere apicală.



Figura 2.7. Structura primară a unor vasopresine (cu litere groase sunt trecute resturile de aminoacizi ce diferă de la o specie la alta).

Absența vasopresinei (de exemplu în cazul unor leziuni la nivelul hipotalamusului) provoacă **diabetul insipid** care se manifestă prin **poliurie** (cu o diureză de 5 – 10 litri, urina având densitatea de 1,001 – 1,005 g/cm³) și **polidipsie** ce constă în creșterea anormală a senzației de sete.

Deși vasopresina este un hormon neurohipofizar, hipofizectomia induce doar un diabet insipid temporar. Studii genetice asupra diabetului

insipid ereditar au arătat că această maladie este provocată de o deleție datorată absenței guaninei în secvența ADN-ului precursor la nivelul transcripției din procesul de biosinteză a neurofizinei. Alterarea structurii acesteia și absența probabilă a codonului *non sens* determină stoparea eliberării în sânge a vasopresinei.

În ceea ce privește mecanismul de acțiune al acestui hormon, vasopresina interacționează cu receptorii săi specifici (AVPR1) localizați în fibrele musculare ale vaselor inducând, prin intermediul proteinei G, activarea *fosfolipazei C* și creșterea concentrației calciului intracelular. Ionii Ca^{2+} astfel eliberați favorizează interacțiunile specifice actină – miozină determinând contracția vaselor. După realizarea contracției, canalele calcice se deschid în membrana reticulului endoplasmatic rugos (SERCA) ceea ce determină o scădere a concentrației calciului intracelular, permițând astfel realizarea unei noi contracții.

La nivel renal, vasopresina interacționează cu receptorii AVPR2 ai tubilor colectori determinând, prin intermediul proteinei G, creșterea concentrației de AMPc. Acesta activează la rândul său *protein-kinaza A* care fosforilează acvaporinele (AQP2). Acvaporinele localizate în veziculele citoplasmice migrează spre membranele apicale unde facilitează trecerea apei în spațiul interstițial renal.

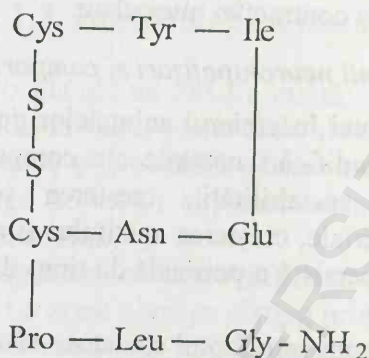
Secreția de vasopresină este reglată datorită existenței a două tipuri de receptori. Dintre aceștia, **osmoreceptorii** din hipotalamus sunt foarte sensibili și au o acțiune foarte rapidă. Creșterea presiunii arteriale stimulează secreția de ADH cu un efect imediat asupra diurezei (**oligurie**) și invers, scăderea presiunii osmotice determină o inhibiție a secreției de ADH, dar cu un efect întârziat asupra diurezei. La acest nivel, reglarea este foarte sensibilă, în așa fel încât să fie menținută constantă presiunea osmotică de 300 mOsm/litru. Astfel, la o creștere a presiunii osmotice cu doar 0,2 % are loc deja o accelerare a secreției de ADH.

În practica medicală se folosesc o serie de preparate cu acțiune antagonistă vasopresinei, mai ales în tratamentul anumitor tipuri de hiponatremie. Cele mai cunoscute medicamente din această serie sunt Tolvaptan® și Covinaptan® utilizați în insuficiența cardiacă și în hiponatremie, ambii produși fiind inhibitori non-peptidici (Gheorghide et al., 2004; Schrier et al., 2006).

2.1.2.3.2. Ocitocina

Ocitocina (OC), numită cândva și **oxitocină**, este o nonapeptidă care diferă structural de vasopresină prin două resturi de aminoacizi: Ile_3 și

Leu⁸. Ea este secretată, în principal, de neuronii paraventriculari și, în mai mică măsură, cei supraoptici. Structura chimică a ocitocinei umane este următoarea:



La femei, concentrația plasmatică normală a ocitocinei este de ordinul a câteva U.I./ml, iar timpul său de înjumătățire este de aproximativ 3 minute. Principala funcție a ocitocinei o constituie acțiunea sa asupra musculaturii netede. Astfel, contracția uterină se realizează sub acțiunea ocitocinei, procesul necesitând însă și o impregnare corespunzătoare cu estrogeni. Nu a fost, însă, demonstrată o eventuală funcție a ocitocinei în declanșarea travaliului la sfârșitul sarcinii. În schimb, travaliul poate fi indus de ocitocina *foetus*-ului care poate străbate bariera placentară, fapt dovedit de nivelul crescut al ocitocinei în sângele fetal.

O altă acțiune a ocitocinei constă în stimularea expulzării laptelui din glanda mamară, secreția acestuia fiind stimulată de prolactină. Dar, secreția și expulzarea laptelui nu pot avea loc decât dacă glanda mamară este impregnată cu estrogeni și progesteron, acest fenomen având loc doar la sfârșitul sarcinii și în perioada de alăptare.

Reglarea secreției de ocitocină se realizează pe cale nervoasă. În timpul nașterii, stimulul (reprezentat de dilatarea colului uterin) este detectat de receptorii localizați în pereții uterului. Acești receptori trimit informația sistemului nervos central care declanșează secreția de ocitocină. Spre deosebire de alți hormoni, în cazul ocitocinei nu există un mecanism reglator de tip *feed-back* care să-i limiteze secreția ci, din contră, ocitocina declanșează un proces care funcționează în cascadă.

La baza mecanismului de acțiune a ocitocinei stă interacțiunea dintre hormon și receptorii specifici din celulele musculare ale uterului și glandelor mamare.

Acești receptori determină activarea *fosfolipazei C* prin intermediul proteinei G, ceea ce conduce la o creștere a concentrației calciului intracelular. La rândul lor, ionii de calciu facilitează interacțiunea specifică dintre actină și miozină care stă la baza contracției musculare.

2.1.2.3.3. Hormonii neurohipofizari și comportamentul

Injectarea ocitocinei în creierul animalelor de experiență (șobolani) determină o serie de modificări notabile ale comportamentului: scăderea agresivității, creșterea sociabilității, creșterea rezistenței la durere, diminuarea tensiunii arteriale, creșterea apetitului și a instinctului matern la femele. Aceste efecte persistă o perioadă de timp de două ori mai mare la femele decât la masculi.

Extrem de interesant este faptul că aceste efecte au fost „transmise” și altor animale crescute în aceeași cușcă dar cărora nu li s-a aplicat acest tratament. S-a demonstrat experimental că această transmitere s-a făcut pe cale olfactivă, cel mai probabil prin intermediul feromonilor.

Hormonii neurohipofizari se regăsesc și în alte zone ale encefalului unde funcționează ca neuromodulatori. Se pare că ocitocina ar avea, din acest punct de vedere, o acțiune asupra proceselor membranare, antagonistă acțiunii hormonului antidiuretic.

Astfel, unii autori consideră faptul că, în timp ce ADH favorizează memoria, ocitocina ar fi un hormon „amneziant”. Această ipoteză a fost emisă în urma unor experimente pe șobolani care au fost „învățați” să nu intre într-o cameră obscură printr-un șoc electric suferit la intrare. Rezultatele au fost pozitive la subiecții cărora li s-a injectat subcutanat ADH și negative la cei cărora li s-a administrat ocitocină.

2.1.2.3.4. Neurofizinele

Neurofizinele sunt proteine specifice ce conțin în molecula lor câte 93 resturi de aminoacizi. În funcție de hormonul transportat, ele se împart în două grupe:

- a) MSEL – neurofizine cu rol în transportul vasopresinei;
- b) VLDV – neurofizine capabile să lege ocitocina. Acestea din urmă diferă doar la nivelul secvenței 1 – 9, în timp ce succesiunea de aminoacizi 10 – 75 este practic constantă.

Neurofizinele constituie, de fapt, fragmente polipeptidice cu originea într-un precursor comun cu cel al hormonului pe care îl transportă. Astfel, precursorul MSEL-neurofizinelor (neurofizina II) este același cu al hormonului antidiuretic și este un pre-pro-hormon cu masa moleculară de

aproximativ 20 kDa, iar precursorul VLDV-neurofizinelor (neurofizina I) este comun cu cel al ocitocinei.

2.1.3. Hormonii pancreatici

Pancreasul este o glandă cu funcție mixtă: una exocrină, prin care pancreasul deversă în intestin suc pancreatic ale cărui enzime au rolul de a degrada glucidele, lipidele și proteinele alimentare și alta endocrină, prin care se deversă în sânge hormonii cu structură polipeptidică cu acțiuni specifice asupra metabolismului.

Încă din 1893, *Laguesse* asociază funcțiile endocrine ale pancreasului cu insulele Langerhans. La acest nivel se disting prin imunofluorescență cel puțin trei tipuri de celule: celule A_2 care secretă un factor hiperglicemiant (glucagonul), celulele B care secretă un factor hipoglicemiant (insulina) și celulele A_1 sau D care secretă somatostatina izolată inițial doar din hipotalamus. Aceste tipuri de celule fac parte din așa-numitul sistem APUD (*amine-precursor uptake and decarboxylation*) care posedă un mecanism comun de biosinteză, stocare și secreție a polipeptidelor cu masă moleculară mică. Pancreasul mai secretă o polipeptidă ce conține 33 resturi de aminoacizi (notată PP sau F) cu efecte asupra tubului digestiv. Fiecare insulă conține câte aproximativ 3000 de celule producătoare de hormoni cu distribuție diferită (tabelul 2.1).

Tabelul 2.1

Distribuția celulelor producătoare de hormoni (în %) în insulele Langerhans ale pancreasului endocrin*

Celule	Insule dorsale	Insule ventrale
B (sau β)	66	74
A_2 (sau α_2)	28	20
A_1 (sau D)	4	4,5
PP (sau F)	2	1,5

* *Hefco*, 1997.

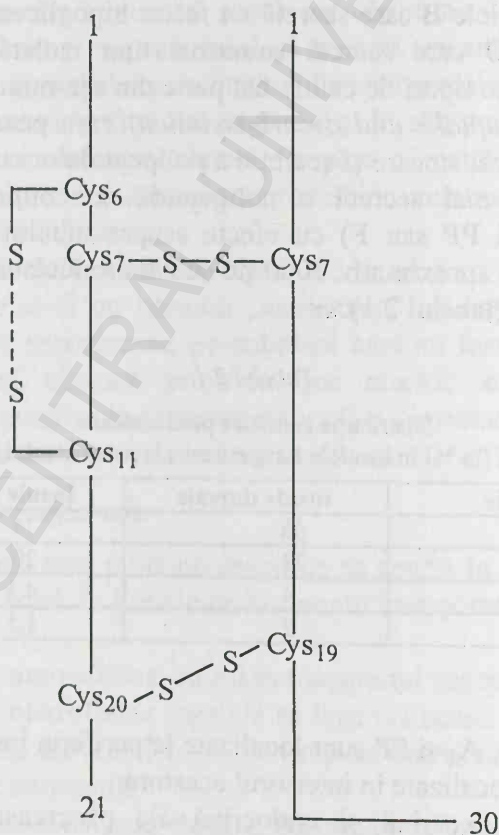
Celulele A_2 , A_1 și PP sunt localizate la periferia insulelor, în timp ce cele de tip B sunt localizate în interiorul acestora.

Structurile exocrină și endocrină ale pancreasului funcționează independent una de cealaltă. Astfel, dacă se realizează o obstrucție a canalelor Wirsung și Santorini, zona externă se atrofiază, în timp ce insulele Langerhans rămân intacte și continuă secreția de hormoni.

2.1.3.1. Insulina

Acest hormon a fost descoperit în 1920 de savantul român *Paulescu*, iar în 1922 a fost izolat de *Banting, Best, Collip* și *MacLeod*. În perioada 1944 – 1953 *Sanger* repetă experimentele lui *Paulescu* determinând structura primară a insulinei și primește în 1958 Premiul Nobel.

Insulina a fost prima proteină căreia i s-a determinat structura primară (în 1955). Molecula insulinei conține două catene polipeptidice: catena A cu 21 resturi de aminoacizi, ce conține o punte disulfidică intracatenară formată de resturile Cys₆ și Cys₁₁ și catena B alcătuită din 30 resturi de aminoacizi. Cele două catene polipeptidice sunt legate între ele prin două punți disulfidice formate de resturile de cisteină A₇ – B₇, respectiv, A₂₀ – B₁₉:



Puntea disulfidică intracatenară din catena A este deosebit de importantă deoarece secvența aminoacizilor din bucla formată de aceasta

reamintește succesiunea resturilor de aminoacizi din ocitocină și vasopresină. Aminoacizii din pozițiile 8, 9 și 10 ale catenei A (Thr, Ser și Ile) sunt esențiali pentru caracterizarea insulinelor de la diferite specii:

insulina de bou:-Ala - Ser - Val -

insulina de oaie:-Ala - Gly - Val -

insulina de cal:- Thr - Gly - Ile -

insulina de om:- Thr - Ser - Ile -

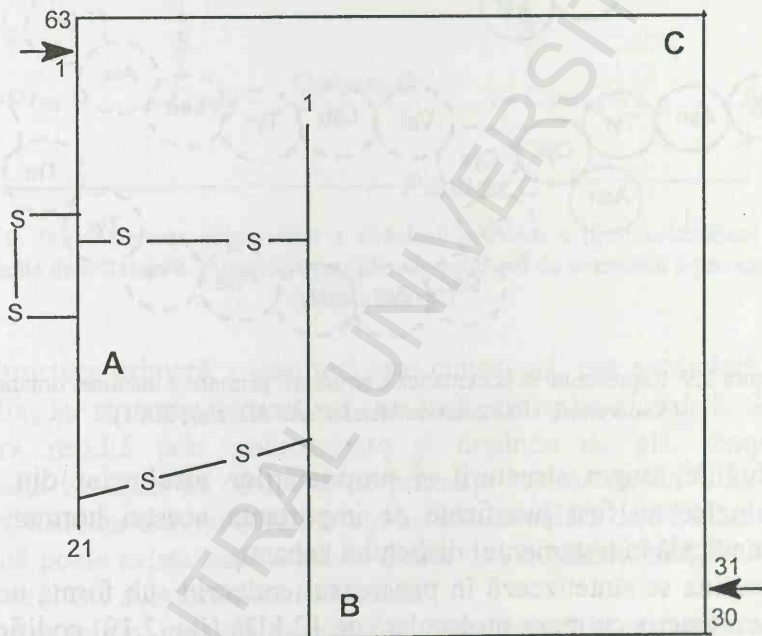


Figura 2.8. Reprezentarea schematică a punctelor de clivare în catena polipeptidică a proinsulinei, în procesul conversiei acesteia în insulină.

În urma unor experimente cu aminoacizi marcați radioactiv, s-a demonstrat faptul că insulina este sintetizată în insulele *Langerhans* ale pancreasului sub forma unui precursor cu o masă moleculară mai mare decât cea a insulinei, acesta fiind denumit **proinsulină**.

Molecula proinsulinei este formată dintr-o singură catenă polipeptidică ce conține 84 resturi de aminoacizi și are o masă moleculară de 9.000 Da. În această catenă se regăsesc atât catenele A și B ale insulinei cât și un fragment peptidic C care diferă de la o specie la alta (fig. 2.8). Pentru insulina umană și cea specifică altor mamifere este cunoscută structura primară (fig. 2.9).

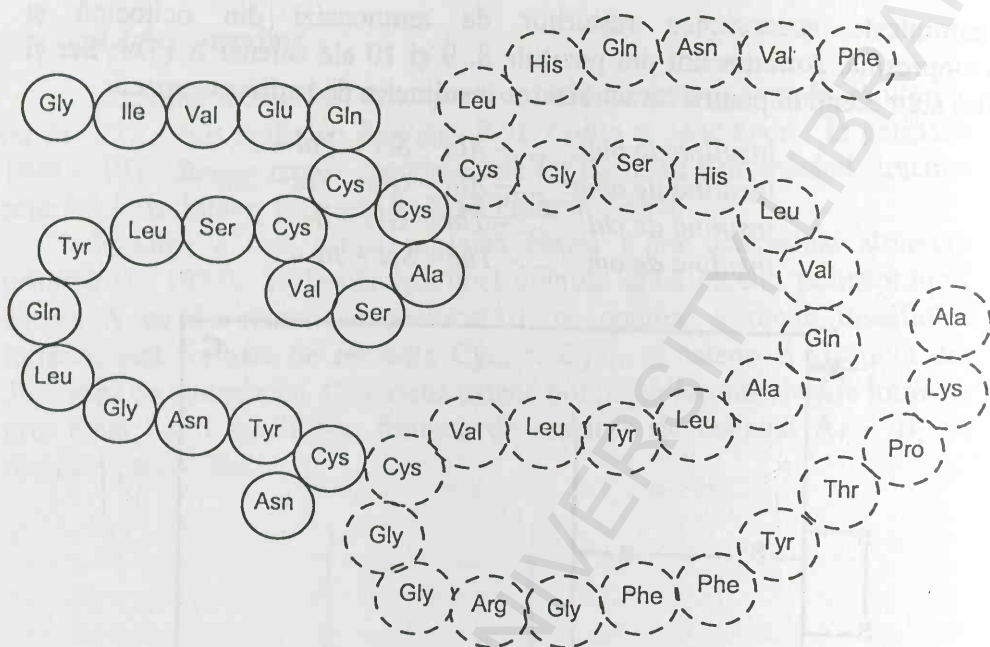


Figura 2.9. Reprezentarea schematică a structurii primare a insulinei umane (Kucerenko, 1988 citat de Metzler and Metzler, 2001).

Studiile asupra structurii și proprietăților insulinelor din diferite surse biologice au fost justificate de importanța acestui hormon pentru practica medicală în tratamentul diabetului zaharat.

Insulina se sintetizează în pancreasul endocrin sub forma unui pre-pro-hormon inactiv cu masa moleculară de 12 kDa (fig. 2.10) codificat de o genă a cărei succesiune de baze azotate este cunoscută încă din 1980.

La nivelul reticulului endoplasmatic are loc clivarea așa-numitei **secvențe semnal** („pre”) de la capătul N-terminal al moleculei cu eliberarea pro-insulinei ce conține 84 resturi de aminoacizi în cazul hormonului uman și respectiv 88 resturi la cel porcine. Se consideră că secvența semnal permite proteinei elaborate la nivel ribozomal să pătrundă în cisternele rețelei endoplasmatică.

Pro-insulina este apoi transportată în aparatul Golgi ce conține enzimele necesare clivării așa-numitei **peptide C** (reprezentând o secvență de 33 resturi de aminoacizi cu o masă moleculară de 3 kDa) și formează insulina activă.

Fragmentul polipeptidic C este o secvență internă, fapt ce explică formarea insulinei bicatenare dintr-o singură catenă polipeptidică a pro-

insulinei. Rolul peptidei C este încă neelucidat. Este posibil ca ea să joace un rol de protejare a insulinei față de acțiunea enzimelor proteolitice intracelulare.

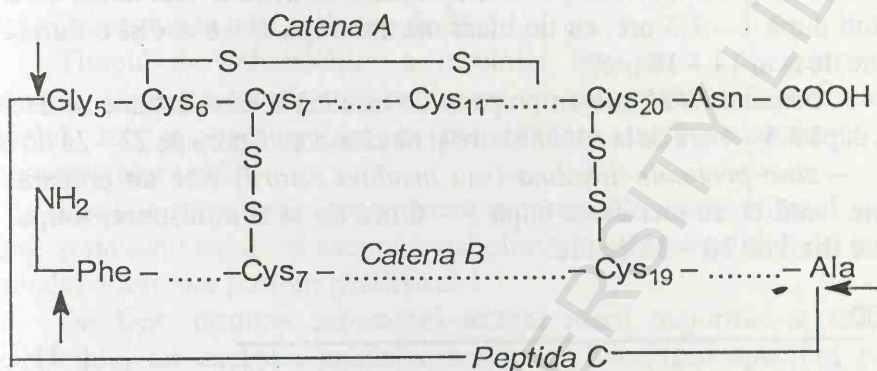


Figura 2.10. Reprezentarea schematică a structurii primare a pre-pro-insulinei (săgețile indică locurile de scindare a legăturilor peptidice în procesul de conversie a precursorului în insulină activă).

Structura primară a insulinei este cunoscută, cea secundară este de tip α -helix, iar structura terțiară nu este încă pe deplin elucidată. Structura cuaternară rezultă prin polimerizare și depinde de pH, temperatură, concentrația insulinei în mediu și de prezența ionilor de Zn^{2+} . În condiții obișnuite, insulina este un tetramer cu masa moleculară de 24 kDa. Insulina cristalizată poate exista sub formă de dimer sau hexamer, însă, uneori, este prezentă exclusiv sub formă de monomer.

De exemplu, insulina de cobai nu dimerizează în prezența ionilor de Zn^{2+} deoarece, în poziția B₂₂, restul de arginină existent la insulinele altor animale este înlocuit cu un rest de acid aspartic.

Studii asupra insulinei bovine în ceea ce privește dinamica legării zincului au arătat că nu există o legătură directă între legarea ionilor de Zn^{2+} și activitatea hormonală a insulinei deoarece fragmentele din moleculă implicate în activitatea sa biologică sunt diferite de cele care participă la legarea zincului. Formarea dimerilor insulinei prin participarea ionilor de zinc are loc datorită existenței resturilor de histidină în catenele A (fig. 2.11).

Asocierea moleculelor de insulină cu formare de trimeri și tetrameri are și o importanță practică deoarece preparatele de insulină utilizate pentru tratamentul diabetului zaharat diferă după compoziția lor chimică și tipul de acțiune astfel:

– *insulina obișnuită sau clasică* este un preparat de insulină cristalizată care are o acțiune rapidă, efectele manifestându-se după 20 – 30 minute de la administrare, iar durata medie de acțiune este de aproximativ 6 ore;

– *zinc-globin-insulina* este un preparat cu acțiune mai lentă, efectele apărând după 1 – 1,5 ore, cu un efect maxim după 6 – 8 ore și o durată de acțiune de cca. 14 – 16 ore;

– *insulina NPH* este un preparat de insulină a cărei acțiune se declanșează după 3,5 – 4 ore de la administrare și rămâne activă timp de 22 – 24 de ore;

– *zinc-protamin-insulina* (sau *insulina retard*) este un preparat cu acțiune lentă ce se manifestă după 5 – 6 ore de la administrare, timpul de acțiune fiind de 30 – 32 de ore.

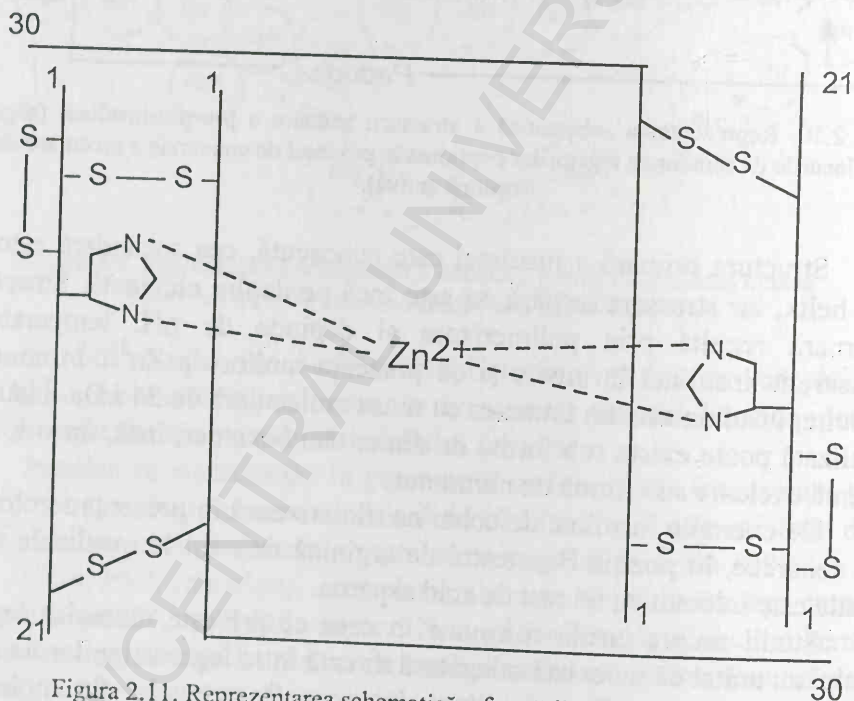


Figura 2.11. Reprezentarea schematică a formării dimerilor insulinei.

Conversia pro-insulinei în insulină activă se realizează în veziculele secretoare care vor expulza prin exocitoză atât insulina cât și peptida C în cantități stoechiometrice, fiecare veziculă conținând peste 8000 molecule de insulină. Exocitoza este un proces complex ce necesită prezența ionilor de Ca^{2+} , iar peptida C reprezintă, la diabetici, cel mai important indiciu al secreției de insulină deoarece dozarea sa se realizează mult mai ușor comparativ cu cea a insulinei.

Insulina, pro-insulina și peptida C se găsesc în plasma sanguină sub formă liberă, nelegată de proteine. Unitatea internațională de insulină este considerată acea cantitate de hormon ce determină o scădere a glicemiei la un iepure de 2 kg în decurs de 5 ore la nivelul normal de 0,45 g/l (1 mg de insulină corespunde unei activități de 24,5 U.I.

Timpul de înjumătățire a insulinei este scurt, de aproximativ 5 minute, iar degradarea sa se realizează, în principal, în ficat și rinichi, probabil, sub acțiunea proteazelor membranare, după acțiunea insulinei asupra celulelor țintă.

Insulina acționează preponderent asupra a trei organe (ficatul, țesutul adipos și mușchii striati) și asupra metabolismului glucidic, lipidic și proteic la nivelul diferitelor țesuturi periferice.

De fapt, insulina acționează asupra mării majorități a celulelor organismului cu excepția celulelor nervoase. Receptorii specifici pentru insulină sunt reprezentați de o proteină de semnalizare transmembranară. Acțiunea metabolică generală se manifestă prin două modalități: favorizarea pătrunderii în celule a diferitelor substanțe și reglarea metabolismului celular al acestora.

Acțiunea insulinei asupra țesutului hepatic

Ficatul este principalul organ în care se realizează gluconeogeneza, adică biosinteza glucozei prin utilizarea în calitate de precursori a unor produși intermediari ai metabolismului lipidic și proteic. În același timp, ficatul reprezintă sediul exclusiv al cetogenezei. Spre deosebire de alte celule, glucoza traversează membrana hepatocitului prin difuzie simplă.

La un nivel fiziologic normal al glicemiei și în absența insulinei, membranele celulare constituie bariere impermeabile pentru glucoză, cu excepția celulelor hepatice, celulelor sanguine, celulelor nervoase și a celulelor B din insulele Langerhans. Aceste membrane devin, însă, permeabile pentru glucoză în hiperglicemie.

Insulina stimulează biosinteza *glucokinazei* care este o *hexokinază* specifică hepatică, favorizând stocarea glucozei în ficat și transformarea sa în glicogen (de unde și efectul hipoglicemiant al insulinei), precum și degradarea acesteia pe calea glicolitică.

Insulina mai activează lipogeneza hepatică și inhibă efectul cetogenic al glucagonului. Asupra proteinelor, insulina are o acțiune de stimulare a anabolismului și de inhibare a catabolismului.

Hiposecreția insulinică determină apariția bolii numită **diabet zaharat** care, din punct de vedere biochimic, se manifestă prin hiperglicemie. Nivelul

insulinei plasmatice în sângele periferic, scade la 12 – 15 $\mu\text{U/ml}$. În această situație, la un subiect normal, pro-insulina poate contribui cu până la 20 – 30% la formarea insulinei libere plasmatice. Acest procent crește mult (până la 80%) în hiperinsulinemia cauzată de tumorile pancreatice și în insulinopenie (diabet insulino-dependent, hipokalemie severă etc.), precum și în obezitate.

Diabetul insulino-dependent, sau diabetul juvenil este sindromul hipoinsulinic cel mai sever. Simptomele acestuia reprezintă consecința directă a insuficienței insulinice. Hiperglicemia este cauzată de alterarea capacității de transport a glucozei prin membranele celulare și consumarea acesteia, de accelerarea glicogenolizei și gluconeogenezei (Schatz and Bingley, 2001).

În felul acesta, concentrațiile crescute ale glucozei depășesc capacitatea reabsorbției tubulare (aceasta fiind de maximum 300 – 350 mg/ml), ceea ce provoacă glicozuria. La rândul ei, aceasta antrenează o poliurie osmotică ce generează polidipsie datorită fenomenelor de deshidratare.

Hiperinsulinemia se manifestă prin obezitate. Ea poate coexista cu o toleranță glucidică normală dar, cel mai adesea, determină o hipoglicemie mai mult sau mai puțin severă.

Acțiunea insulinei asupra țesutului adipos

Țesutul adipos reprezintă principala sursă energetică a organismului și principala sursă de acizi grași liberi din sânge. Insulina stimulează lipogeneza prin stocarea triacilglicerolilor, fiind singurul hormon antilipolitic al organismului. La același nivel, insulina manifestă un efect contrar acțiunii cetonice a glucagonului și favorizează utilizarea corpurilor cetonici.

Acțiunea insulinei asupra mușchilor striati

La nivel muscular, insulina stimulează biosinteza glicogenului (prin intermediul activării *hexokinazei*) și, în egală măsură, glicoliza anaerobă. Ea inhibă proteoliza și lipoliza în țesutul muscular și favorizează transportul activ al unor aminoacizi prin membrana celulară.

În mușchii striati, ca și în țesutul adipos, lipsește *glucozo-6-fosfataza*. De aceea, glicogenoliza nu determină formarea glucozei libere ci a acidului lactic.

Efectele periferice ale insulinei

La nivel periferic, insulina acționează, în general, în sensul accelerării utilizării glucozei prin stimularea transportului acesteia în celule. La o concentrație fiziologic normală a glucozei plasmatice, insulina acționează în sensul creșterii permeabilității membranelor celulare față de monozaharide.

Intracelular, glucoza este transformată în glucozo-6-fosfat. De aceea, insulina stimulează degradarea acesteia prin trei căi metabolice principale: glicoliză, calea pentozofosfaților și glicogenogeneză. Este stimulată totodată lipogeneza, iar colesterolemia crește. La nivel periferic, insulina manifestă asupra proteinelor o dublă acțiune, având atât un efect anabolic cât și unul anticatabolic.

Receptorul specific al insulinei este o glicoproteină ce poate lega 1 000 – 200 000 de molecule de hormon. Mecanismul general de acțiune a insulinei este un mecanism care implică activarea *tirozina-kinazei*, fiind, în ultimă instanță, un mecanism similar cu cel prin care acționează diferiți factori de creștere. Stimularea secreției de insulină este un proces complex, glucozo-dependent.

La nivel capilar, glucoza sanguină este filtrată trecând în limfa interstițială care inundă și celulele β ale insulelor Langerhans. De aceea, concentrația glucozei în jurul celulelor β este de același ordin de mărime ca și în sânge. Glucoza pătrunde în celule prin intermediul unui transportor nesaturabil (GLUT2) deși multe celule posedă receptori ai glucozei ce se saturează foarte repede.

Metabolismul glucozei în celulele β determină o creștere a raportului ATP/ADP care, la rândul său, induce închiderea canalelor de potasiu sensibile la concentrații crescute ale ATP-ului. Ionii K^+ sunt exportati, acest fenomen determinând depolarizarea membranelor celulelor β care sunt celule excitabile atâta timp cât concentrația extracelulară a glucozei depășește valoarea de 5 mmoli/litru.

Această depolarizare determină deschiderea canalelor de calciu. Ionii de Ca^{2+} intră în celulă unde induc exocitoza veziculelor ce conțin insulină. Hormonul astfel eliberat trece în sânge printr-un proces de transcitoză (endocitoză + exocitoză) de-a lungul endoteliului capilar.

Dintre toate organele, creierul este mai sensibil față de nivelul glicemiei. Atunci când glicemia coboară sub limita minimă fiziologic normală, primul care reacționează este creierul deoarece acest organ consumă aproximativ 70% din glucoza sanguină, iar reacția constă în trimiterea unui semnal „de foame”.

2.1.3.2. Glucagonul

Glucagonul este un hormon secretat de celulele A_2 ale insulelor Langerhans, fiind o polipeptidă cu masa moleculară de 3485 Da formată din 29 resturi de aminoacizi (la om):

$$\text{H}_2\text{N}-\text{His}-\text{Ser}-\text{Gln}-\text{Gly}-\text{Thr}-\text{Phe}-\text{Thr}-\text{Ser}-\text{Asp}-\text{Tyr}-\text{Ser}-\text{Lys}-\text{Tyr}$$

$$\text{Leu}-\text{Trp}-\text{Gln}-\text{Val}-\text{Phe}-\text{Asp}-\text{Gln}-\text{Ala}-\text{Arg}-\text{Ser}-\text{Asp}-\text{Leu}$$

$$\text{Met}-\text{Asn}-\text{Thr}-\text{COOH}$$

Glucagonul a fost descoperit, în 1923, de către *Kimball* și *Murlin* în urma unor cercetări asupra extractelor pancreatice. Structura sa chimică a fost descifrată după mai bine de 30 de ani pentru ca, după alți 20 de ani, să fie clarificate funcțiile sale biochimice și fiziologice.

Ca și în cazul insulinei, el este sintetizat sub forma unui pre-pro-hormon inactiv care trece în proglucagon, iar acesta este convertit în glucagon activ prin clivarea unui fragment octapeptidic de la capătul C-terminal. Structura primară a glucagonului variază foarte puțin de la o specie de mamifere la alta. Ca și insulina, glucagonul circulă sub formă liberă, nefiind legat de vreo proteină de transport. În condiții fiziologice normale, concentrația plasmatică a glucagonului se situează în jurul valorii de 0,1 ng/ml (0,05 nM/l), iar catabolismul are lor preponderent la nivel hepatic.

Principala funcție a glucagonului o constituie acțiunea de stimulare a glicogenolizei, ca și în cazul adrenalinei, dar numai la nivel hepatic, determinând creșterea nivelului glucozei în sânge. El stimulează, de asemenea, gluconeogeneza și diminuează glicoliza prin inhibarea activității *fosfofructo-kinazei* și *izoenzimei L a piruvat-kinazei*.

În același timp, glucagonul inhibă lipogeneza la nivel hepatic, dar stimulează cetogeneza, iar asupra proteinelor are un efect de intensificare a catabolismului. Toate aceste acțiuni ale glucagonului asupra metabolismului determină un efect indirect al acestuia de stimulare a secreției de insulină care este indusă de hiperglicemie.

Receptorul specific pentru glucagon, întâlnit în toate celulele hepatice, este o proteină cu masa moleculară de 62 kDa, care nu poate lega nici secretina, nici **VIP** (**peptida intestinală vasoactivă**) datorită analogiei structurale și funcționale a acestor trei peptide. Mecanismul de acțiune a glucagonului se bazează pe activarea *adenilat-ciclazei* care determină o creștere a concentrației de AMPc, aceeași acțiune fiind, la rândul ei, reglată de proteina G.

2.1.4. Hormonii glandei paratiroide

Glandele paratiroide secretă un hormon cu structură polipeptidică numit **parathormon (PTH)** cu rol în reglarea metabolismului calciului și menținerea echilibrului ionic al organismului.

Parathormonul este prezent nu numai la mamifere ci și la celelalte vertebrate, cu excepția peștilor. Molecula parathormonului este o polipeptidă cu masa moleculară de 8,5 kDa și conține 84 resturi de aminoacizi. Biosinteza se realizează sub forma unui pre-pro-hormon cu 115 resturi de aminoacizi. Sub acțiunea unei *peptidaze-semnal*, acesta eliberează la nivelul reticulului endoplasmatic pre-hormonul (105 resturi de aminoacizi, masă moleculară 12 kDa) prin clivarea unui fragment decapeptidic (fig. 2.12).

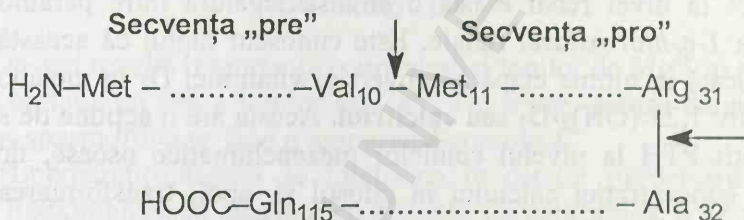


Figura 2.12. Reprezentarea schematică a structurii primare a moleculei de pre-pro-parathormon (săgețile indică legăturile peptidice ce se hidrolizează în procesul conversiei precursorului în hormon activ).

Pro-hormonul trece apoi în aparatul Golgi unde are loc etapa finală a conversiei precursorului în hormon activ prin clivarea unei secvențe conținând 21 resturi de aminoacizi.

Secreția parathormonului și eliberarea lui în circulația sanguină se realizează prin exocitoză. În condiții fiziologice normale, concentrația plasmatică a parathormonului oscilează între 0,3 – 1,7 ng/ml, iar perioada sa de înjumătățire este de 10 – 20 minute. Principalul factor ce reglează secreția parathormonului îl reprezintă nivelul calciului ionic din plasmă.

În privința mecanismului de acțiune al parathormonului, acesta interacționează la nivelul celulelor țintă cu receptorii transmembranari specifici cuplați cu proteina G. În urma acestor interacțiuni are loc o creștere a concentrației AMPc care determină activarea *protein-kinazelor*. La rândul lor, aceste enzime accelerează procesul de fosforilare a proteinelor implicate în transportul ionilor de calciu și a altor ioni anorganici.

Principalele organe țintă ale PTH sunt reprezentate de rinichi și sistemul osos. Acțiunea parathormonului constă în mobilizarea calciului

osos, fenomen prin care este favorizată osteoliza. La acest nivel, acțiunea PTH constă în stimularea formării osteoclaștilor și a depolimerizării mucopolizaharidelor din substanța fundamentală.

O altă funcție a parathormonului constă în inhibarea osteogenezei prin favorizarea dediferențierii osteoblaștilor, precum și în stimularea eliberării din țesutul osos a calciului, magneziului, hidroxiprolinei și citratului.

La nivel renal, principala acțiune a parathormonului constă în favorizarea eliminării fosfatului, hiperfosfaturia fiind determinată de inhibarea reabsorbției tubulare a acestui anion. Acest efect determină apariția hipofosfatemiei care declanșează, la rândul ei, o demineralizare a oaselor în vederea menținerii la valori constante a raportului $\text{Ca}^{2+}/\text{PO}_4^{3-}$ în sânge. PTH provoacă, de asemenea, o inhibiție a resorbției sodiului.

Tot la nivel renal există o strânsă legătură între parathormon și activitatea *1- α -hidroxilazei* renale. Este cunoscut faptul că această enzimă este implicată în ultima etapă a conversiei vitaminei D_3 în metabolitul său hiperreactiv $1,25-(\text{OH})_2\text{-D}_3$ sau **calcitriol**. Acesta are o acțiune de stimulare a activității PTH la nivelul celulelor mezenchimatice osoase, favorizând creșterea concentrației calciului în citosol și, apoi, transformarea acestor celule în osteoclaste.

Parathormonul manifestă și o acțiune indirectă asupra intestinului la nivelul căruia favorizează efectele $1,25-(\text{OH})_2\text{-D}_3$. Toate aceste efecte ale PTH determină o creștere a calcemiei în detrimentul bilanțului calcic la nivel osos.

De fapt, în debutul acțiunii sale, PTH are o acțiune hipocalcemiantă pentru că apoi, ca urmare a creșterii permeabilității membranare față de ioni de Ca^{2+} , concentrația plasmatică a acestora să crească.

Insuficiența paratiroidiană prezintă două aspecte distincte, în funcție de etiologie și evoluție. Astfel, există așa-numitul pseudo-hipoparatiroidism datorat unei rezistențe periferice față de PTH. Această rezistență determină tabloul clinic al hipoparatiroidismului asociat cu anomalii morfologice.

Insuficiența paratiroidiană propriu-zisă provoacă un sindrom specific numit **tetanie** ce se manifestă prin hiperexcitabilitate neuromusculară. Uneori, aceasta din urmă poate stimula și o criză de **epilepsie**.

Din punct de vedere biochimic, tetania este însoțită de hipocalcemie (calcemia poate scădea până la 70 mg/l față de 100 mg/l cât este valoarea fiziologic normală) și hiperfosfatemie (60 – 100 mg/l față de 30 – 40 mg/l). Se pare că hipocalcemia reprezintă factorul direct responsabil de hiperexcitabilitatea neuromusculară în tetanie. Factorul cel mai important nu îl

constituie, însă, nivelul global al calciului sanguin ci scăderea concentrației calciului ionic (Ca^{2+}).

În condiții fiziologic normale, raportul dintre calciul ionic și cel legat (în esență de proteine) este:

$$K = \frac{\text{Ca}^{2+}}{\text{Ca}} = \frac{4,5}{4} \approx 1$$

De aceea, excitabilitatea neuromusculară nu depinde numai de nivelul calciului ionic, ci și de raportul:

$$\frac{[\text{Na}^+][\text{K}^+][\text{HO}^-]}{[\text{Ca}^{2+}][\text{Mg}^{2+}][\text{H}^+]}$$

De aici rezultă importanța concentrației ionilor de Mg^{2+} în plasmă, în strânsă corelație cu cea a ionilor de Ca^{2+} . De aceea, pentru diagnosticarea tetaniei și spasmofiliei se face o ionogramă completă.

Hiperparatiroidismul se întâlnește în osteita fibrochistică sau în maladia Recklinghausen asociată cu adenom de paratiroidă și se manifestă prin dereglări la nivel osos și renal.

Simptomele osoase constau în dureri și fracturi sau deformări cauzate de o decalcifiere generalizată. La nivel renal, hiperparatiroidismul se manifestă prin litiază cu calculi renali alcătuiți din fosfați sau oxalați de calciu. La nivel sanguin și urinar se înregistrează hipercalcemie și, respectiv, hiperfosfaturie.

Spasmofilia este o afecțiune insuficient definită, asociată cu crizele de tetanie și cu manifestări neurovegetative. La un subiect aparent normal, unele fenomene cum ar fi o emoție extrem de puternică sau o intoxicație, declanșează o serie de crize de tonus la nivelul feței și membrelor.

Acestea nu sunt, însă, însoțite de modificări evidente ale parametrilor biochimici. Astfel, calcemia este normală, iar magnezemia este, de cele mai multe ori, normală.

Se observă, totuși, eliminări crescute de calciu pe cale renală și dereglări digestive de lungă durată capabile să antreneze hipokalemie și hipomagnezie.

2.1.4.1. Calcitonina și vitaminele D

Acțiunea parathormonului asupra metabolismului fosfocalcic este în strânsă interdependență cu acțiunea specifică a **calcitoninei** (hormon polipeptidic secretat de **glanda tiroidă**) și a vitaminelor D.

Calcitonina (CT) este un hormon cu acțiune hipocalcemiantă sintetizat în celulele parafoliculare (sau celulele C) ale tiroidei. Aceste celule secretă de fapt doi hormoni – **calcitonina** și **katacacina** – precum și o serie de neuromediatorii printre care **serotonina** și **DOP-amina**.

Calcitonina de porc și bou, precum și cea umană este o polipeptidă ce conține 32 resturi de aminoacizi și are o masă moleculară de 3,4 kDa. Timpul de înjumătățire este de aproximativ 16 minute, iar concentrația plasmatică normală se situează în jurul valorii de 60 ng/l. La capătul C-terminal al catenei se află un rest de cisteină care formează o punte disulfidică intracatenară cu restul Cys₇ (fig. 2.13).

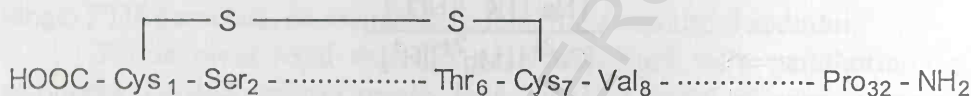


Figura 2.13. Reprezentarea schematică a structurii primare a calcitoninei umane.

Experimental, s-a constatat o secreție de calcitonină ca răspuns la hipercalcemia provocată, stimulentele specifice fiind calciul ionic (Ca^{2+}). Calcitonina acționează în mod specific asupra sistemului osos în sensul inhibiției catabolismului la acest nivel, în timp ce osteogeneza nu este modificată. Aceste două fenomene conjugate explică hipofosfatemia și hipocalcemia provocate de acțiunea calcitoninei.

În același timp însă, calcitonina acționează și la nivel renal unde inhibă activitatea *1- α -hidroxilazei* determinând o accelerare a excreției urinare de calciu, fosfat, sodiu și potasiu. La nivelul tubului digestiv, calcitonina favorizează absorbția calciului.

După cum este cunoscut, un rol extrem de important în metabolismul fosfo-calcic îl joacă și vitaminele D. Aceasta înseamnă că se realizează o acțiune conjugată a parathormonului, calcitoninei și vitaminelor D în bilanțul fosfo-calcic.

Se pare că această conjugare are loc la nivelul modulării activității *1- α -hidroxilazei*, enzimă ce catalizează conversia 25-hidroxi-colecalciferolului, format la nivel hepatic, în 1,25-dihidroxi-colecalciferol (calcitriol), forma cea mai activă a vitaminei D₃.

Bilanțul fosfo-calcic asigură un echilibru optim între aportul și eliminarea calciului și a fosforului în așa fel încât să realizeze o mineralizare normală a scheletului. Absorbția Ca^{2+} și PO_4^{3-} este favorizată de vitaminele D și parathormon care acționează ca doi factori sinergici, iar eliminarea acestor ioni este controlată de trei factori:

- **vitaminele D** care stimulează reabsorbția lor în tubul proximal, determinând astfel o diminuare a fosfaturiei și calciuriei;
- **parathormonul** care are o acțiune opusă la nivelul tubului proximal dar care favorizează reabsorbția calciului;
- **calcitonina** care inhibă reabsorbția Ca^{2+} și PO_4^{3-} , determinând creșterea calciuriei și fosfaturiei.

2.1.5. Hormonii glandei timus

Timusul este o glandă de origine endobranhială care atinge 35 – 38 grame la pubertate după care regresează la adult, dar nu se atrofiază complet. Limfocitele precursorare T dobândesc proprietăți imunologice depline după trecerea lor prin timus sub efectul unor factori cu acțiune hormonală, de natură polipeptidică.

α -Timozina este o polipeptidă ce conține 28 resturi de aminoacizi și are o masă moleculară de 3,1 kDa. Ea este sintetizată sub formă de pro-timozină (113 resturi de aminoacizi, $M = 12$ kDa) care, paradoxal, este adevăratul hormon. Deoarece pro-timozina se întâlnește și în alte organe și țesuturi (splină, plămâni, ficat, rinichi etc.) se consideră că ea nu este un hormon specific doar timusului.

Timulina (*factorul seric al timusului* – FTS) este o nonapeptidă cu masa moleculară de 860 Da. Activitatea sa nu se manifestă decât după eliminarea factorului seric inhibitor. Timulina este reprezentată de secvența *Glu-Glu-Ala-Lys-Ser-Glu-Gly-Ser-Asp* și derivă, probabil, de la o serie de precursori proteici cu mase moleculare cuprinse între 48 – 54 kDa.

Timopoietina II este un alt factor cu acțiune hormonală secretat de timus a cărei moleculă conține 49 resturi de aminoacizi. Denumirea acestui hormon provine din limba greacă ($\theta\iota\mu\upsilon\varsigma$ – *timus*; $\pi\alpha\iota\epsilon\iota\nu$ – *a face*). Rolul biologic al timopoietinei constă în capacitatea sa de a conferi limfocitelor capacitate imunitară.

S-a demonstrat faptul că, în afară de rolul său imunologic, timusul joacă și un rol endocrin până la maturitatea sexuală. Acest rol este îndeplinit de factorii amintiți mai sus și este orientat asupra secreției hipofizare de GH, LH și ACTH, precum și asupra secreției de glucocorticosteroizi de către corticosuprarenale.

Aceste acțiuni au fost demonstrate, printre altele, prin experimente de timentomie la șobolani de o lună când s-a observat o scădere bruscă a concentrației plasmatică de ACTH și corticosteron și o creștere a nivelului sanguin de LH și testosteron.

2.1.6. Hormonii gastrointestinali

Diferite segmente ale tubului digestiv conțin 15 tipuri de celule „endocrine” capabile să sintetizeze și să secrete polipeptide cu acțiune hormonală care îndeplinesc mai multe funcții.

În primul rând, ele acționează în sensul reglării activității glandelor exocrine. Astfel de funcții sunt îndeplinite de **gastrină** (ce acționează la nivelul stomacului), **colecistokinină-pancreozimină** (pentru vezica biliară) etc.

Gastrina este o decapeptidă secretată în zona pilorului sub forma unui precursor cu 34 resturi de aminoacizi. Activitatea hormonală este determinată de fragmentul C-terminal a moleculei. Gastrina este secretată de celulele G din ansa gastrică și zona proximală a duodenului. Principala sa funcție constă în stimularea secreției ionilor de H^+ de către celulele parietale gastrice printr-un mecanism AMPc-dependent.

Gastrina mai activează motricitatea gastrointestinală și relaxează sfincterul piloric și sfincterul ODDI. Acest hormon mai are efecte trofice asupra mucoasei gastrointestinale și a pancreasului. Secreția de gastrină este controlată printr-un mecanism de tip *feed-back* de către valoarea pH-ului gastric.

La rândul ei, secreția de gastrină este stimulată de polipeptidele și aminoacizii de origine alimentară, factori de natură nervoasă, factori gastrici etc. Secreția de gastrină mai este stimulată de hipercalcemie prin intermediul receptorilor **CaSR** (*Calcium Sensitive Receptor*).

Hipersecreția de gastrină conduce la apariția sindromului Zollinger – Ellison caracterizat prin hipersecreție acidă gastrică (hiperaciditate gastrică).

Secretina este o polipeptidă monocatenară cu 27 resturi de aminoacizi secretată de celulele S din mucoasa duodenală. Ea stimulează secreția apei și a bicarbonaților și diminuează secreția ionilor de Cl^- la nivelul celulelor epiteliale ale canalelor intra-pancreatice, secreție ce nu depinde de sistemul nervos parasimpatic. Datorită acestei acțiuni, secretina poate fi considerată ca fiind un antihormon al gastrinei.

Secretina mai stimulează secreția de **pepsină** și tonusul sfincterului esofagian inferior și inhibă motilitatea gastrică. Cel mai important factor care stimulează biosinteza secretinei îl reprezintă pH-ul sucului duodenal.

Datorită stimulării secreției de HCO_3^- care neutralizează aciditatea gastrică, secretina mai este considerată a fi un hormon antagonist gastrinei.

Secretina a fost evidențiată prima dată la începutul secolului XX de către W. Bayliss și E. Starling.

Colecistokinina-pancreozimina (CCK-PZ) este o polipeptidă monocatenară cu un număr variabil de resturi de aminoacizi în moleculă (4, 8 sau 33, hormonul uman conținând 33 astfel de resturi) secretată de celulele peretelui duodenal sub forma unui precursor (precolecistokinina) ce conține în moleculă 115 resturi de aminoacizi (Greenough et al., 1998).

Fragmentul absolut indispensabil activității hormonale este cel situat la extremitatea C-terminală. În funcție de numărul resturilor de aminoacizi în moleculă, colecistokininele pot fi de trei tipuri: CCK₄, CCK₈ și respectiv CCK₃₃.

CCK-PZ stimulează contracția vezicii biliare și secreția α -amilazei de către celulele acinare pancreatice. În același timp ea activează secreția *pepsinei* și a ionilor de H⁺ la nivel gastric, motilitatea intestinului subțire și a colonului, secreția de insulină, glucagon și calcitonină etc. Toate aceste funcții ale colecistokininei fac ca acest hormon să joace un rol deosebit în digestie și în instalarea senzației de sațietate.

Efectele colecistokininei variază de la individ la individ. În cercetări efectuate pe animale de experiență s-a demonstrat faptul că administrarea de colecistokinină reduce în mod evident senzația de foame la puii de șobolan de sex masculin dar această acțiune este mai puțin accentuată la masculi (deci scade cu vârsta) și cu mult mai puțin eficace la femele. Secreția de colecistokinină este declanșată de prezența în duoden a lipidelor și peptidelor (proteinelor) alimentare (Wiesenfeld-Hallin, 2002).

2.1.7. Eritropoietina

Plasma sanguină a mamiferelor anemice conține un factor capabil să activeze eritropoeza dacă este administrată unui animal normal. Această substanță, care este secretată de rinichi, a primit numele de **eritropoietină**. Există, însă, o secreție inițială de eritropoietină la nivelul ficatului în timpul vieții fetale, iar în rinichi ea este secretată la nivelul aparatului juxta-glomerular.

Primele cercetări în acest domeniu au fost efectuate la începutul secolului XX. Într-o serie de studii efectuate în 1906, s-a observat faptul că injectarea de plasmă sanguină provenită de la iepuri anemici unor iepuri

normali determină o creștere puternică la aceștia din urmă a producției de globule roșii. Factorul responsabil de acest efect a primit inițial denumirea de **hemopoietină** și abia mult mai târziu a fost denumit eritropoietină, denumire utilizată și astăzi.

După o jumătate de secol (în 1957) a fost evidențiată sinteza sa renală, iar gena ce codifică biosinteza acestui compus a fost identificată și clonată în 1985 fapt ce a permis sinteza la scară industrială a eritropoietinei, utilizarea în scop medical primind aprobările de rigoare în SUA în 1989.

Eritropoietina nu este activă decât în prezența serului sau plasmei sanguine, fie datorită faptului că sângele conține un activator al unui factor de origine hepatică, fie datorită faptului că plasma neutralizează un inhibitor al eritropoietinei.

Mecanismul de acțiune a eritropoietinei constă în stimularea receptorilor membranari care declanșează transcripția genei β -globulinelor, iar secreția acestui hormon este reglată, la rândul ei, de o serie de factori endocrini (tiroxină, androgeni, insulină, prolactină, sistemul renină-angiotensină etc.).

În practica medicală, eritropoietina se folosește în insuficiența renală cronică, diferite maladii hematologice, cancer, limfoame maligne sau mielome multiple etc. În vederea îmbunătățirii performanțelor, unii sportivi (în principal maratonisții și cicliștii) acceptă administrarea de eritropoietină sintetică. O serie de studii efectuate în ultimii 10 – 15 ani au evidențiat o creștere a vitezei acestor sportivi cu aproximativ 10%.

Utilizarea acestor substanțe dopante poate avea, însă, urmări foarte grave, uneori dezastruoase prin faptul că injectarea de eritropoietină sintetică conduce la modificarea puternică a hemoleucogramei în sensul creșterii semnificative a numărului de globule roșii (cu creșterea puternică a valorii hematocritului de la 45% cât este valoarea fiziologic normală până la aproximativ 65%).

Drept urmare, în timpul unui efort fizic prelungit se realizează o creștere puternică a vâscozității sanguine care mărește probabilitatea formării trombelor. În aceste condiții, crește considerabil pericolul apariției aritmiilor cardiace și a accidentelor vascular-cerebrale.

Aceste modificări induse în organismul sportivilor prin administrarea de eritropoietină explică numărul din ce în ce mai mare, observat în ultimii ani, al deceselor prin stop cardiac în rândul sportivilor de performanță, în special în rândul fotbaliștilor și al cicliștilor.

Din această cauză, Federația Internațională de Ciclism a introdus, în 1997, obligativitatea controalelor periodice asupra determinării eritropoietinei de sinteză la cicliști, atât în sânge cât și în urină. În paralel, aceleași foruri internaționale au hotărât interdicția de a participa la competiții a sportivilor ce prezintă valori ale hematocritului mai mari de 50%.

2.1.8. Inima – organ endocrin?

O serie de celule prezente în atriul secretă un hormon hipotensiv de natură polipeptidică a cărui moleculă conține 28 resturi de aminoacizi. El a primit numele de **factor natriuretic atrial (ANF)** sau **atriopeptidă**. El este sintetizat sub forma unui precursor ce conține 152 resturi de aminoacizi (fig. 2.14), iar conversia acestuia în hormon activ se realizează prin clivarea fragmentelor polipeptidice 1–98 de la extremitatea N-terminală și, respectiv, 127–152 de la cea C-terminală.

Atriopeptida interacționează cu receptorii săi specifici din rinichi, suprarenale, vasele sanguine și hipotalamus, iar mecanismul de acțiune este AMPc-dependent. Acțiunea atriopeptidei constă în stimularea diurezei prin reglarea hemodinamicii glomerulare, a natriurezei prin acțiunea asupra tubului distal etc. Atriopeptida are și o acțiune vasodilatatoare prin blocarea angiotensinei II și catecolaminelor.

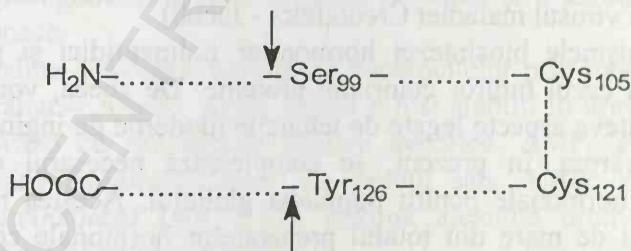


Figura 2.14. Reprezentarea schematică a structurii primare a precursorului atriopeptidei (săgețile indică legăturile peptidice ce suferă scindare hidrolitică în procesul de activare).

Concentrația sa normală în sânge oscilează între 65 – 68 pmoli/ml, iar timpul său de înjumătățire este de 2,5 minute. Deși excreția renală de sodiu este favorizată în principal de ACTH, în cazul ANF nu există nici o acțiune inhibitoare asupra pompelor ionice celulare, atriopeptida asigurând funcționarea normală a musculaturii netede din pereții arteriali. De aceea,

presiunea arterială normală reprezintă rezultatul echilibrului între secrețiile de ADH și ANF și, implicit, al acțiunii lor sinergice asupra excreției sodiului și antagoniste asupra musculaturii vaselor sanguine.

2.1.9. Biosinteza și mecanismele de acțiune ale hormonilor polipeptidici

Deși majoritatea hormonilor cu structură polipeptidică au masă moleculară relativ mică, doar unii dintre ei au putut fi obținuți prin sinteză chimică. Utilizarea practică a hormonilor pune o serie de probleme destul de dificile, chiar și în cazul celor naturali. Utilizarea insulinei porcine și bovine în tratamentul diabetului zaharat la om nu prezintă practic nici un risc de apariție a reacțiilor imune.

În schimb, hormonul de creștere prezintă o foarte înaltă specificitate de specie. În primul caz, extracția hormonului se face din pancreasul bovin sau porc, în timp ce hormonul de creștere nu poate fi obținut decât din hipofiza umană, recoltată de la cadavre (din care cauză cantitățile disponibile sunt relativ mici, iar prețul foarte ridicat).

În altă ordine de idei, obținerea preparatelor hormonale naturale presupune utilizarea unui număr mare de glande, ceea ce determină o creștere a riscului de contaminare (cum s-a întâmplat în 1985 în SUA și Anglia când un întreg lot de preparate farmaceutice de somatotropină a fost contaminat cu virusul maladiei Creutzfeldt - Jacob).

Mecanismele biosintezei hormonilor polipeptidici și proteici sunt aceleași ca în cazul tuturor celorlalte proteine. De aceea, vom aborda, în continuare, câteva aspecte legate de tehnicile moderne de inginerie genetică cu ajutorul cărora, în prezent, se completează necesarul de preparate farmaceutice hormonale pentru populația globului. Acestea reprezintă un procent destul de mare din totalul preparatelor hormonale comercializate astăzi.

Primul hormon obținut pe această cale a fost somatostatina care prezintă avantajul unei molecule relativ mici (14 resturi de aminoacizi). Succesiunea nucleotidică ce codifică biosinteza somatostatinei a fost dedusă în funcție de structura primară a hormonului, iar gena corespunzătoare a putut fi astfel obținută pentru prima dată în 1977.

La o genă structurală au fost adăugate 10 perechi de baze azotate necesare inserției unui fragment de ADN dublu catenar într-un plasmid care a fost apoi introdus în celule de *Escherichia coli*. Pentru evitarea unei

degradări prea rapide a somatostatinei de către enzimele bacteriene, se grefează un rest de metionină la capătul N-terminal al moleculei hormonului.

Aceeași tehnică a fost aplicată și în cazul insulinei. În 1978, au fost sintetizate genele corespunzătoare celor două catene polipeptidice ale insulinei, acestea unindu-se prin punți disulfidice după sinteză. Acest tip de insulină a început să fie comercializat în 1982 la un preț rezonabil (fiecare celulă bacteriană era capabilă să sintetizeze aproximativ 100.000 molecule de hormon).

Practica medicală a arătat și un alt avantaj: dacă în cazul utilizării insulinei bovine s-a observat apariția IgG la 19% dintre subiecți, iar în cazul celei porcine la 17% din bolnavi, folosirea insulinei umane obținută prin tehnica de mai sus a determinat stimularea biosintezei de IgG la doar 6% din cazuri.

Gena hormonului de creștere nu a putut fi sintetizată, din care cauză ea se izolează din celulele umane. Metoda constă în extracția din celulele hipofizare umane a unui ARNm ce codifică biosinteza unei enzime (*revers-transcriptaza*) ce permite obținerea unei copii de ADN complementar. Molecula de ADN dublu catenar, replicată de mai multe ori, a fost apoi introdusă în celule bacteriene.

Mecanismele de acțiune ale hormonilor polipeptidici au început să fie studiate încă din 1957, după descoperirea AMPc. Cercetările au fost demarate de *Sutherland și colab.* care au studiat mecanismele de acțiune ale insulinei și glucagonului asupra celulelor hepatice și a adrenalinei asupra celulelor adipose.

Adrenalina activează *fosforilaza* hepatocitelor prin intermediul unui factor membranar – AMPc. Acest aspect a fost stabilit în urma unor studii efectuate *in vitro* cu omogenate tisulare hepatice. AMPc este sintetizat datorită activării *adenilat-ciclazei*. La rândul său, AMPc este activator pentru o *proteinkinază* (fig. 2.15), enzimă alcătuită dintr-o subunitate receptoare (R) și una catalitică (C).

AMPc determină detașarea subunităților catalitice care pot apoi activa (prin fosforilare) *kinaza fosforilazei b* ce trece în forma sa activă (*fosforilaza a*) capabilă să acționeze asupra glicogenului pe care îl va scinda fosforolitic. În acest caz, AMPc acționează ca un efector alosteric.

Moleculele de AMPc se transformă în AMP sub acțiunea hidrolitică a unei *fosfodiesteraze* ce poate fi inhibată de unii derivați metilxantini (de exemplu, cafeina, teobromina etc.) și activată de imidazol. În unele cazuri, AMPc poate fi eliminat din celulă, iar creșterea concentrației sale sanguine poate reprezenta un test clinic al activității hormonale.

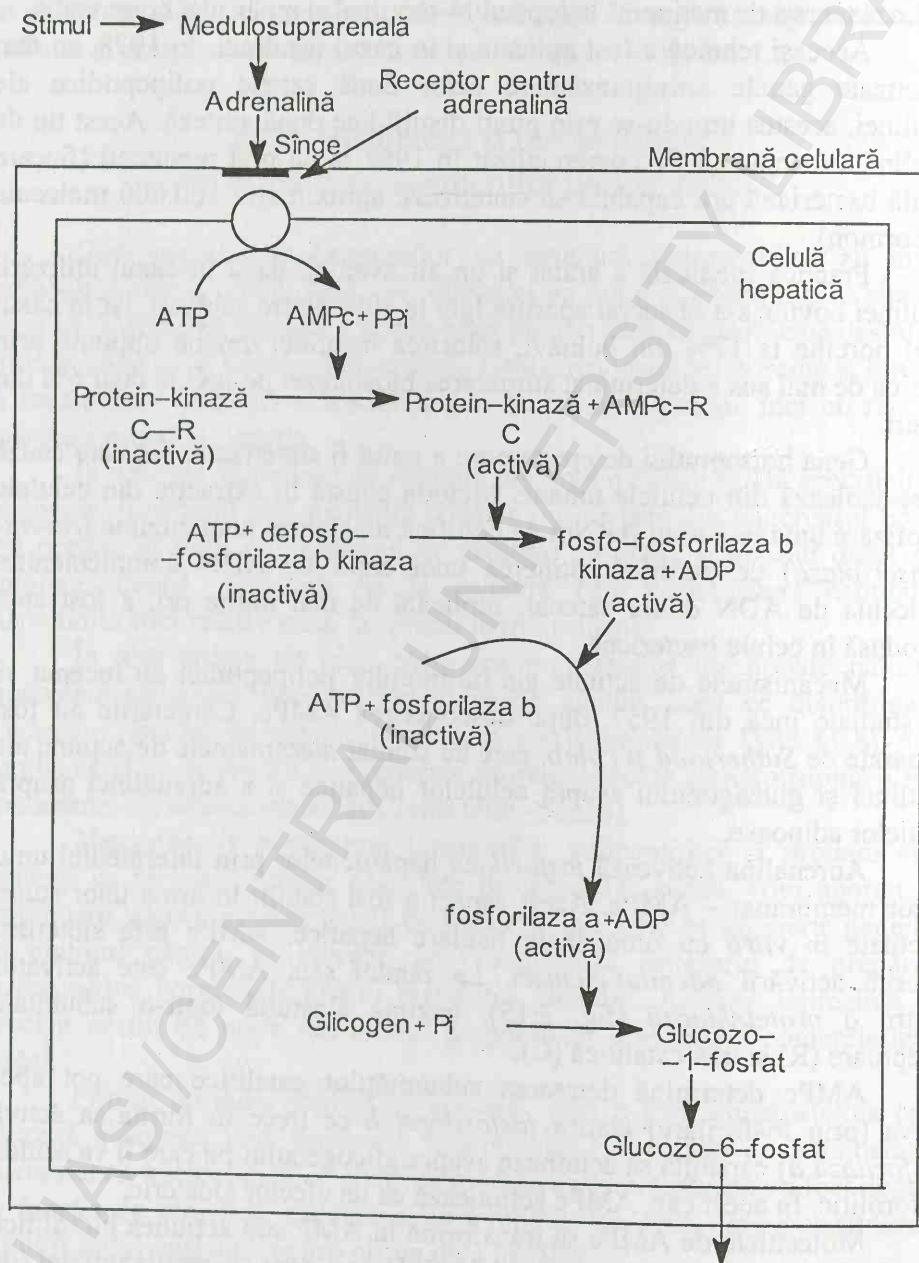


Figura 2.15. Reprezentarea schematică a mecanismului de acțiune al adrenalinei (Nussey and Whitehead, 2001).

Acest mecanism (până la etapa activării *protein-kinazei*) a fost generalizat pentru alți hormoni polipeptidici de aceiași autori. S-a demonstrat faptul că *adenilat-ciclaza* este întâlnită în toate membranele celulare și că ea este o proteină „receptoare” care constituie elementul specific de recunoaștere.

Interacțiunea hormonului cu această proteină receptoare determină o modificare a conformației *adenilat-ciclazei* care degradează ATP-ul în AMPc și pirofosfat. Recunoașterea are loc la nivel membranar deoarece hormonii polipeptidici nu pot traversa membranele celulare.

Impactul membranar reprezintă semnalul care declanșează o serie de răspunsuri ce conduc la o acțiune specifică a hormonului asupra celulelor țintă (aceasta constă, în general, în activarea sau inhibiția uneia sau mai multor enzime).

Hormonul poate apoi intra în circulația sanguină fiind degradat la nivelul anumitor organe (ficat, rinichi etc.) sau poate fi catabolizat în chiar vecinătatea locului de interacțiune cu receptorul de către enzimele membranare ale celulei țintă. Așa se întâmplă, de exemplu, în cazul glucagonului care este hidrolizat de către *proteazele* membranare.

În unele situații, însă, complexul hormon-receptor pătrunde în celulă prin endocitoză. În acest caz, hormonul este degradat în lizozomi, iar receptorul revine la nivelul membranei reluând un nou ciclu.

2.2. Hormoni derivați de la aminoacizi

Din această clasă fac parte hormonii pentru a căror biosinteză se utilizează diferiți aminoacizi în calitate de precursori, aceștia aflându-se fie în stare liberă, fie încatenati în lanțuri polipeptidice. Hormonii derivați de la aminoacizi sunt sintetizați și secretați de către glanda tiroidă, medulo-suprarenale, epifiză etc.

2.2.1. Hormonii glandei tiroide

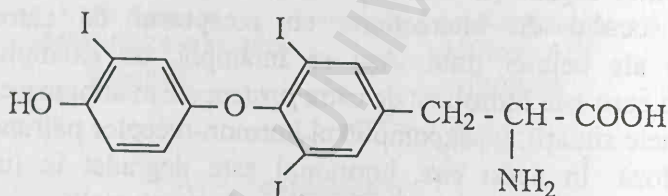
Tiroida este o glandă impară, localizată în zona anterioară a regiunii laringo-traheale și are o masă de 25 – 30 grame la om (adult).

Glanda tiroidă are un metabolism specific și un mecanism de reglare asemănător cu cel întâlnit la alte glande endocrine hipofizo-dependente cu excepția faptului că este strict dependentă și de aportul de iod exogen, un

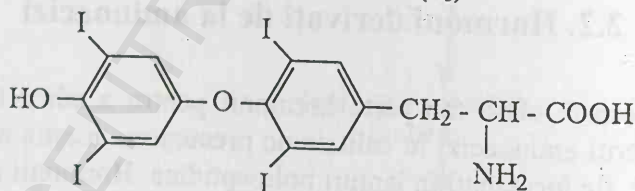
oligoelement rar ce pătrunde în organism în cantități extrem de diverse de la o zi la alta, în funcție de dietă. Din această cauză, tiroida este capabilă să stocheze o anumită cantitate de hormoni pe care-i sintetizează în vederea asigurării continue a unui nivel plasmatic constant (Cojocaru și colab., 2000).

Capacitatea de biosinteză a hormonilor tiroidieni se află sub controlul adenohipofizei (prin intermediul hormonului tireotrop – TSH). Mai există, însă, și un alt mecanism de autoreglare intratiroidian care, însă, nu este pe deplin elucidat. Mult timp s-a considerat că glanda tiroidă secretă doar hormoni iodurați. Astăzi, se cunoaște, însă, faptul că tiroida mai produce și un hormon cu structură polipeptidică numit *calcitonină*, cu rol în metabolismul calciului (vezi capitolul 2.1.4.1).

Hormonii tiroidieni iodurați sunt derivați ai tirozinei. Doi dintre aceștia prezintă activitate hormonală: **3,5,3'-triiodtironina (T_3)** și **3,5,3',5'-tetraiodtironina** sau **tiroxina (T_4)**:



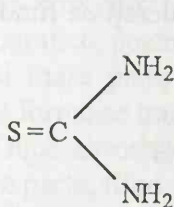
3,5,3'-triiodtironina (T_3)



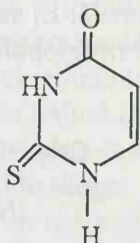
3,5,3',5'-tetraiodtironina (tiroxina, T_4)

Tiroxina (T_4) a fost izolată prima dată în 1910 de către americanul Kendall, R. care a utilizat, în acest scop, trei tone de tiroidă de porc, în timp ce triiodtironina (T_3) a fost descoperită în 1952 de către francezul Roche, J. Astăzi se folosesc în practica medicală preparate de hormoni tiroidieni cunoscute sub denumirile comerciale *Elthyron*, *L-thyroxine Christiaens*, *Thyrax* și *Novothyral* în Belgia, *L-thyroxine Roche*, *Levothyrox* și *Euthyral* în Franța, *Eltroxine* și *Euthyrox* în Elveția, *Synthroid* și *Cytomel* în Canada și altele.

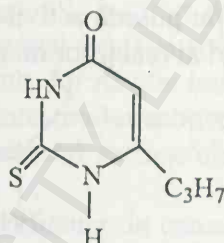
Cei mai cunoscuți compuși de sinteză cu acțiune antitirodiană sunt tioureea, tiouracilul și propil-tiouracilul:



tiouree



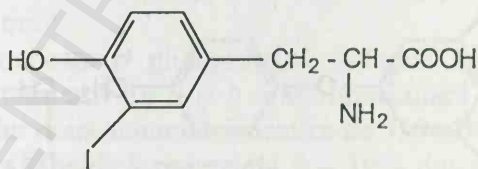
tiouracil



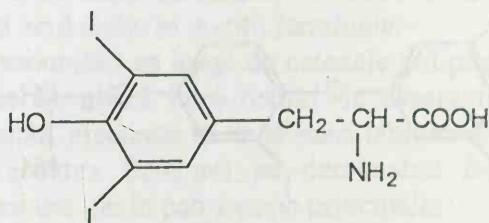
propil-tiouracil

Structura hormonilor tiroidieni se caracterizează prin existența radicalului difenil-eter. În pozițiile *para* față de oxigenul eteric se întâlnesc un hidroxil fenolic și, respectiv, un rest de alanină. Cele două nuclee benzenice formează între ele un unghi de aproximativ 120°, iar conformația cea mai stabilă este atunci când planurile nucleelor aromatice sunt perpendiculare unul pe celălalt.

Glanda tiroidă mai conține și doi derivați iodurați ai tirozinei, fără activitate hormonală, care joacă un rol extrem de important în procesul de biosinteză a hormonilor tiroidieni: 3 - monoiodtirozina (MIT) și respectiv 3,5 - diiodtirozina (DIT):

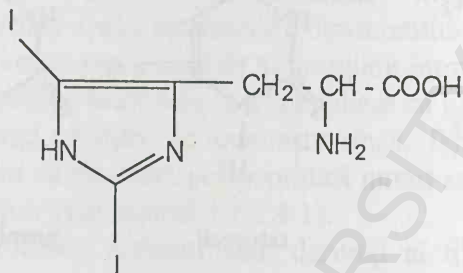


3-monoiod-tirozină (MIT)

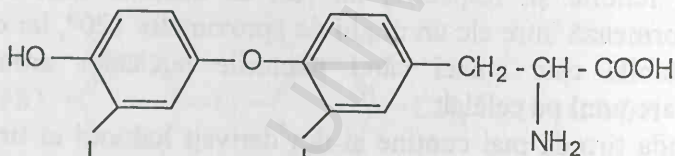


3,5-diiod-tirozină (DIT)

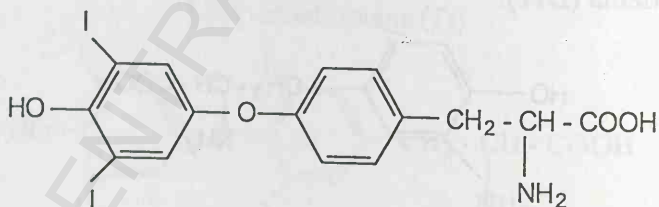
Au mai fost identificați în tiroidă și alți aminoacizi iodurați, în cantități mult mai mici, printre care 2,4-diiodhistidina, 3,3'-diiodtironina, 3',5'-diiodtironina și, respectiv, 3,3',5'-triiodtironina. Nici unul din acești derivați nu posedă activitate hormonală. Ei sunt considerați ca fiind produși secundari ai reacțiilor de iodurare a tiroglobulinei:



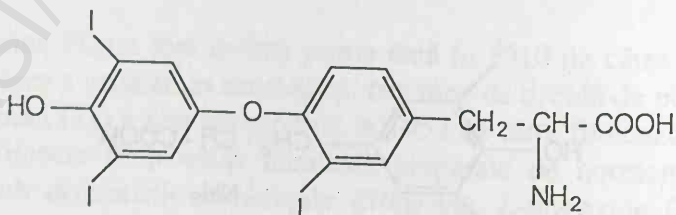
2,4 - diiod-histinină



3,3' - diiod-tironină



3,5 - diiod-tironină



3,3',5 - triiod-tironină

Iodul necesar biosintezei hormonilor tiroidieni este de origine alimentară. Pentru om, se consideră că aportul optim este de aproximativ 200 $\mu\text{g}/\text{zi}$. În unele regiuni muntoase, el poate scădea foarte mult (sub 10 $\mu\text{g}/\text{zi}$) din cauza concentrației scăzute a iodului în apă și sol, în timp ce, în alte zone geografice, poate fi mult mai mare decât cel normal (până la 1000 $\mu\text{g}/\text{zi}$). Cea mai mare parte a iodului alimentar este sub formă de iodură (I^-). Celelalte forme se transformă în iodură la nivelul intestinului subțire.

După absorbție, iodul rămâne în compartimentul extracelular în cea mai mare parte, fiind vehiculat de sânge.

Glanda tiroidă posedă un mecanism foarte eficient de concentrare a iodului plasmatic cunoscut sub numele de **pompă de iod**. În condiții fiziologice normale, se stabilește un gradient de concentrație când nivelul iodului tiroidian este de 20 – 40 de ori mai mare decât în plasmă, iar față de alte organe și țesuturi este mai mare de circa 200 de ori.

Prima transformare pe care o suferă iodul în glanda tiroidă îl constituie oxidarea iodurii în iod elementar de către o *peroxidază* tiroidiană a cărei acțiune este cuplată cu cea a *glucosoxidazei* sau a altei enzime generatoare de H_2O_2 :



Imediat după oxidare, iodul elementar este încorporat în **tiroglobulină (TGB)**, componenta proteică majoră a tiroidei. În același timp, tiroglobulina reprezintă suportul molecular al biosintezei hormonilor tiroidieni, ea fiind stocată în lumenul foliculilor într-o concentrație de 20 – 30% sau chiar mai mult.

Tiroglobulina este o glicoproteină iodurată cu un coeficient de sedimentare de aproximativ 19 S și o masă moleculară de 660 kDa, având molecula formată din două subunități identice de 330 kDa.

Componenta glucidică reprezintă 8 – 10% din moleculă și conține două tipuri de unități hetero-polizaharidice; una din ele are o masă moleculară de aproximativ 1000 Da și conține N-acetil-glucosamină și manoză, iar cealaltă, cu masa moleculară de 3000 Da conține, în principal, galactoză, fucoză și acid sialic în poziții terminale.

Cele două subunități se leagă de catenele polipeptidice prin legături β -glicozidice ce se formează între resturi de asparagină și de N-acetil-glucosamină. Cercetări efectuate în două mari laboratoare (*Roche* în Franța și *Pitts-Rivers* în Marea Britanie) au demonstrat faptul că biosinteza hormonilor tiroidieni are loc în patru etape principale:

- captarea și concentrarea iodurilor în tiroidă (*trapping*);
- oxidarea iodurilor cu formare de iod elementar;

- încorporarea iodului molecular în tiroglobulină;
- proteoliza tiroglobulinei.

Captarea și concentrarea iodului se realizează printr-un transport activ deosebit de eficient (25 grame tiroidă, adică 1/3000 din masa corpului fixează 1/3 din întreaga cantitate de iod din organism) ceea ce face ca tiroida să capteze zilnic aproximativ 100 μg de iod.

Această etapă de concentrare a iodului se află sub controlul TSH, dar poate fi blocată de anionii perclorat (ClO_4^-) și tiocianat (SCN^-) care sunt inhibitori competitivi.

Astăzi, se știe cu precizie faptul că fenomenul acumulării iodului în glanda tiroidă se realizează prin transport activ, dar nu este elucidată încă natura transportorului implicat în acest proces.

Oxidarea iodurilor se realizează foarte rapid, în câteva minute, datorită activității crescute a *peroxidazei* tiroidiene. Acest proces de oxidare este blocat de tiouree, tiouracil și cianuri care sunt inhibitori ai *peroxidazei* (fig. 2.16).

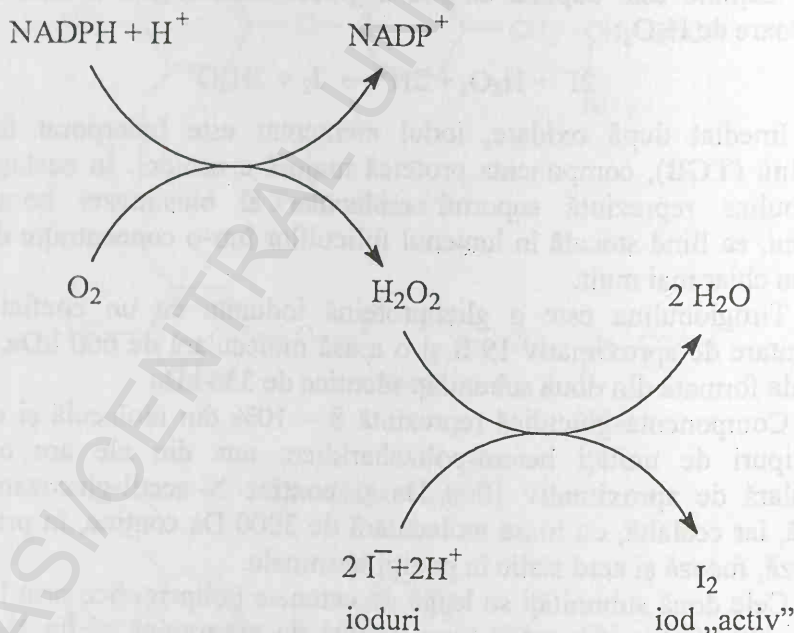


Fig. 2.16. Cuplarea reacțiilor de formare a H_2O_2 cu reacția de activare a iodului.

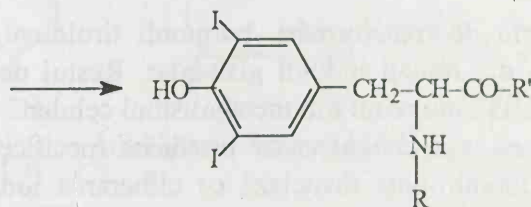
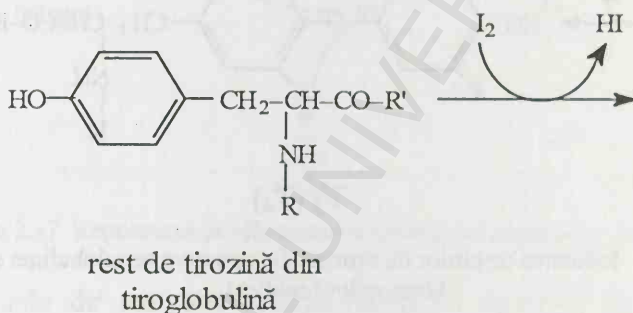
Încorporarea iodului molecular în tiroglobulină se realizează, de asemenea, foarte rapid sub formă de monoiodtironină (MIT) și diiodtironină (DIT) și, mult mai lent, sub forma celorlalți derivați iodurați ai tirozinei.

Halogenarea tirozinei are loc sub acțiunea *iod-peroxidazei*, substratul reacției fiind reprezentat de aminoacidul legat în catena polipeptidică a tiroglobulinei și nu tirozina liberă.

Dacă formarea monoiodtirozinei și diiodtirozinei la nivelul resturilor de tirozină din structura tiroglobulinei se realizează în câteva minute, condensarea acestor derivați pentru formarea hormonilor tiroidieni se desfășoară mult mai lent, timp de câteva ore.

Triiodtironina (T_3) se obține prin condensarea unui radical MIT cu un radical DIT, iar prin condensarea a doi radicali DIT se formează tiroxina (T_4) (fig. 2.16).

Etapă de iodurare:



rest de diiodtirozină din tiroglobulină

Etapa de condensare:

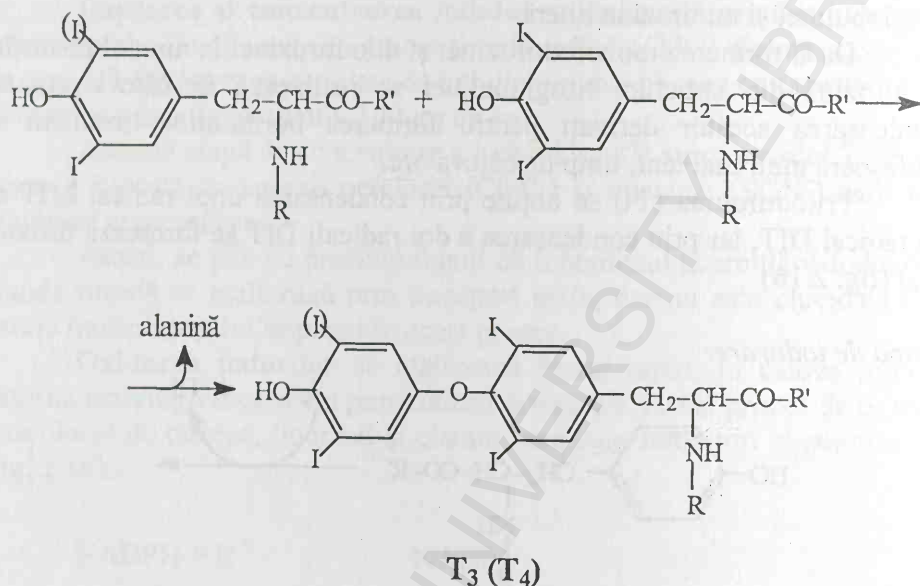


Figura 2.17. Iodurarea resturilor de tirozină din structura tiroglobulinei și sinteza hormonilor tiroidieni.

Tiroglobulina ce conține cei doi hormoni este, apoi, reabsorbită prin endocitoză de către celulele tiroidiene din spațiul intracelular formând vacuole ce fuzionează cu lizozomii.

Proteoliza tiroglobulinei reprezintă ultima etapă a biosintezei hormonilor tiroidieni ce este stimulată de TSH și inhibată de concentrațiile mari de iod. Ea constă în eliberarea hormonilor în urma acțiunii unor *endo-și exo-peptidaze* specifice. În urma procesului hidrolitic, se formează T₃ și T₄ care intră în circulația sanguină în cantități inegale (T₃ reprezintă 10%, iar T₄ 90%).

La un ciclu de transformări, hormonii tiroidieni excretați conțin aproximativ 33% din totalul iodului glandular. Restul de 2/3 rămâne sub formă de MIT și DIT care reintră în metabolismul celular.

Sub acțiunea unei *dehalogenaze* tiroidiene specifice numită și *desiodază*, mono- și diiodtironina disociază cu eliberarea iodului (I⁻) care va participa la un nou ciclu de iodurare a tiroglobulinei, formând așa-numitul **ciclu intratiroidian al iodului** (fig. 2.17). O anumită cantitate din iodul regenerat poate fi deversată în sânge.

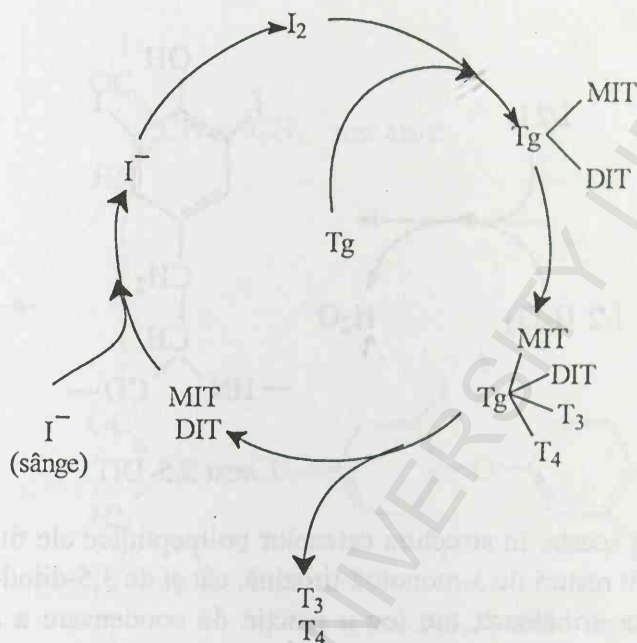
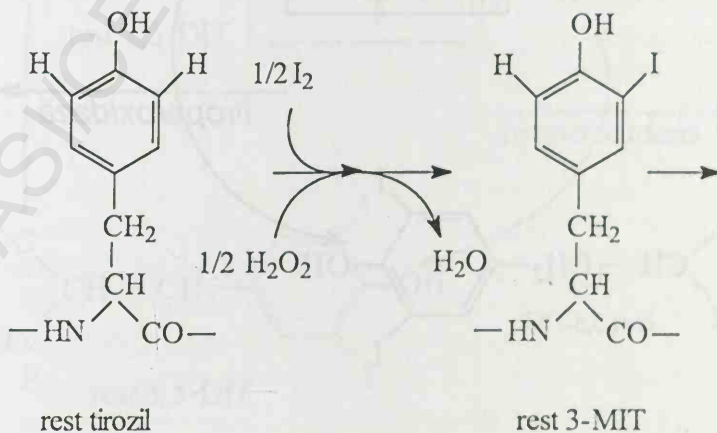
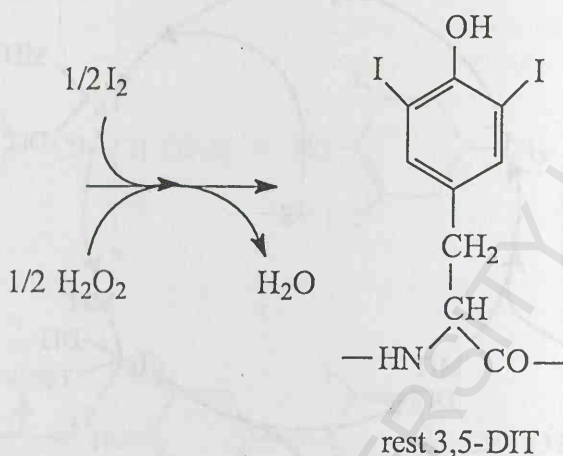


Figura 2.17. Reprezentarea schematică a biosintezei hormonilor tiroidieni.

Din cele de mai sus rezultă faptul că procesul de biosinteză a hormonilor tiroidieni este un proces complex prin intermediul căruia se asigură cantitățile necesare de T_3 și T_4 și se realizează totodată și un circuit al iodului în organism.

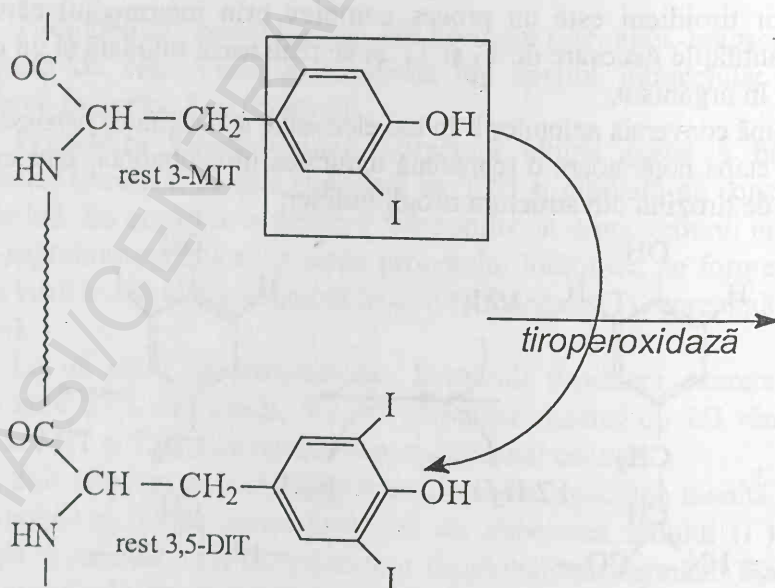
După conversia anionilor I^- în iod elementar sub acțiunea *peroxidazelor* specifice, etapa hotărâtoare o reprezintă iodurarea tiroglobulinei, mai exact a resturilor de tirozină din structura tiroglobulinei:

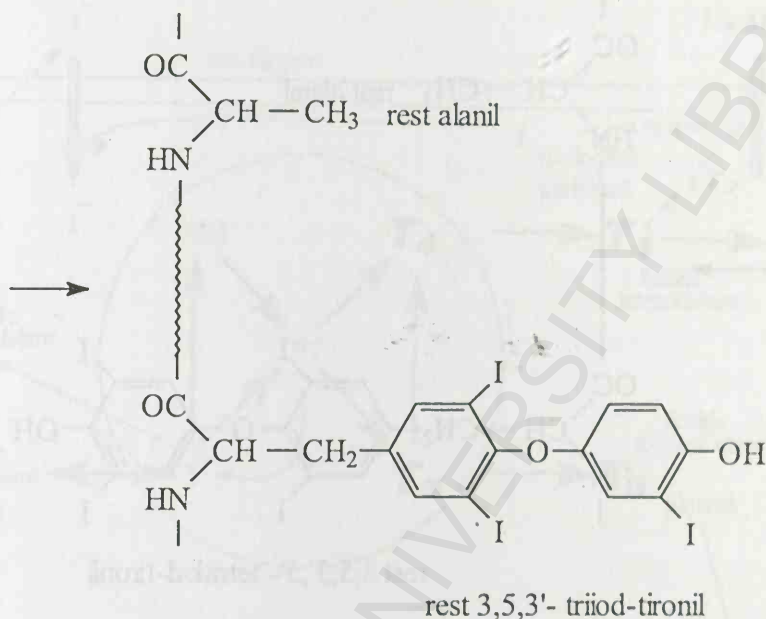




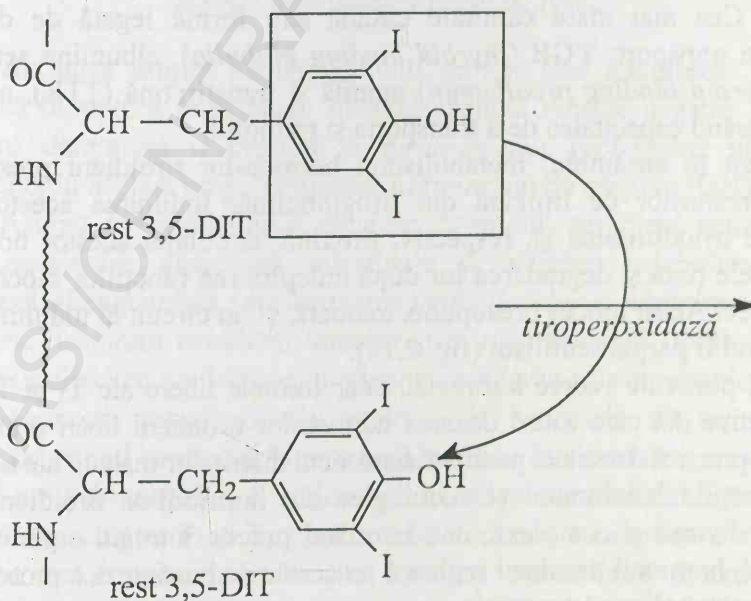
În felul acesta, în structura catenelor polipeptidice ale tiroglobulinei se întâlnesc atât resturi de 3-monoiod-tirozină, cât și de 3,5-diiod-tirozină.

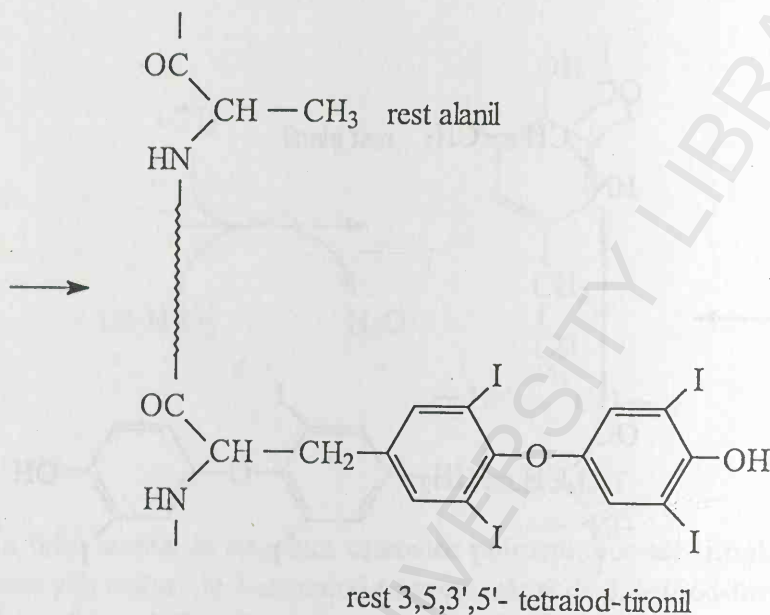
În etapa următoare, are loc o reacție de condensare a acestora cu formarea celor doi hormoni tiroidieni ca parte integrantă din structura tiroglobulinei iodurate (T_3 sub forma radicalilor 3,5,3'-triiod-tironil și T_4 sub formă de radicali 3,5,3',5'-tetraiod-tironil):





În mod similar, prin condensarea a două resturi de 3,5-diiod-tironil se formează tiroxina sub forma radicalului 3,5,3',5'- tetraiod-tironil:





Tiroglobulina astfel modificată (purtaătoare de T_3 și T_4) trece în sânge unde, prin proteoliză, eliberează cei doi hormoni. În circulația sanguină, însă, doar o foarte mică parte din hormonii tiroidieni se află în stare liberă (T_4 în proporție de 0,03%, iar T_3 în proporție de 0,3% din totalul celor doi hormoni). Cea mai mare cantitate circulă sub formă legată de diferite proteine de transport: **TGB** (*thyroid binding globulin*), albumina serică și **TBPA** (*thyroid binding prealbumin*) numită și transtiretină (**TTR**), aceasta din urmă având capacitatea de a transporta și retinolul.

Privit în ansamblu, metabolismul hormonilor tiroidieni presupune utilizarea resturilor de tirozină din tiroglobulină, iodurarea acestora cu formare de triiodtironină și, respectiv, tiroxină, circulația acestor hormoni spre organele țintă și degradarea lor după îndeplinirea funcțiilor biochimice și fiziologice. Acest proces presupune, totodată, și un circuit al iodului, acest anion putând fi parțial reutilizat (fig. 2.18).

Din punct de vedere hormonal, doar formele libere ale T_3 și T_4 sunt biologic active din care cauză dozarea hormonilor tiroidieni liberi prezintă o importanță practică deosebită pentru diagnosticul diferitelor maladii ale tiroidei.

Funcțiile biochimice și fiziologice ale hormonilor tiroidieni sunt extrem de diverse și complexe, ei controlând practic întregul organism. În primul rând, hormonii tiroidieni reglează procesele de biosinteză a proteinelor, precum și metabolismul energetic.

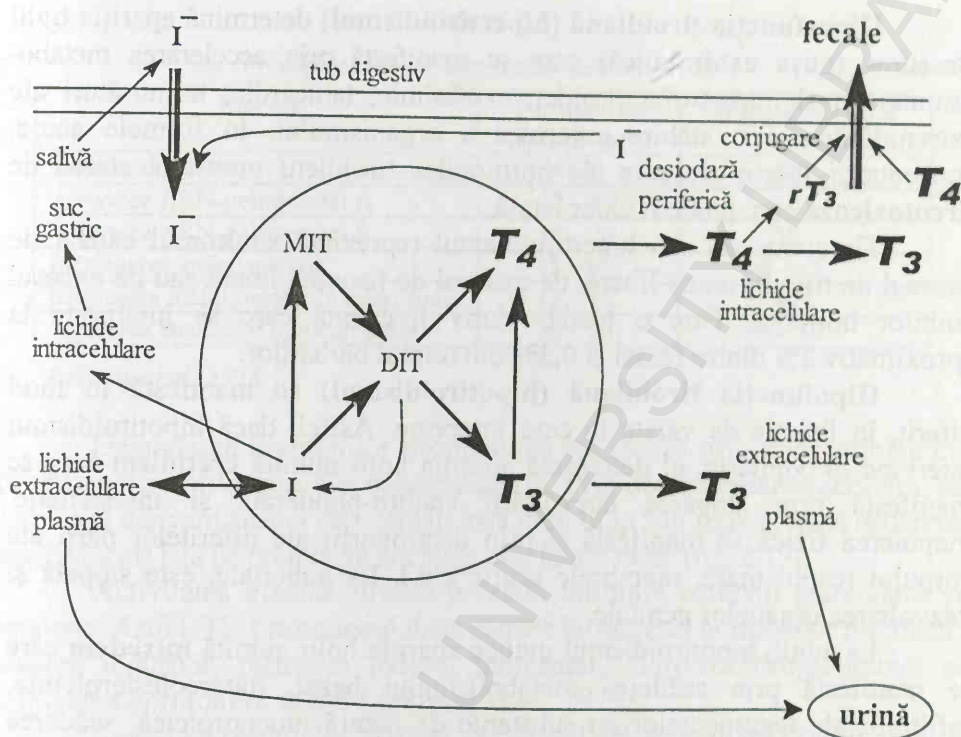


Figura 2.18. Reprezentarea schematică a metabolismului general al hormonilor tiroidieni (Idelman, 1990).

Acțiunea asupra metabolismului proteic este complexă. Deși este accelerată biosinteza proteinelor, bilanțul azotului rămâne negativ. Hormonii tiroidieni determină o creștere a *turnover*-ului proteinelor plasmatice, favorizând, în același timp, biosinteza hormonului de creștere (GH).

Asupra metabolismului glucidic, hormonii tiroidieni acționează în sensul accelerării absorbției intestinale și activării catabolismului. Ei stimulează glicogenoliza prin activarea *fosforilazelor* și inhibarea *glicogen-sintetazei*. Hormonii tiroidieni intervin și în metabolismul lipidic în sensul creșterii lipolizei ce are loc concomitent cu scăderea colesterolemiei.

Hormonii tiroidieni mai intervin în procesele de termoreglare, accelerează ritmul cardiac și favorizează troficitatea sistemului nervos.

La nivel muscular, ei acționează în sensul scurtării fazei de relaxare a fibrelor musculare. T_3 și T_4 stimulează activitatea a numeroase enzime, în special a celor mitocondriale (de unde și accelerarea metabolismului energetic) și a celor implicate în ciclul ureogenetic.

Hiperfuncția tiroidiană (hipertiroidismul) determină apariția bolii **Basedow** (gușa exoftalmică) care se manifestă prin accelerarea metabolismului bazal, hipertrofia tiroidei, exoftalmie, tahicardie, tremurături ale extremităților și o slăbire puternică a organismului. În formele acute, concentrații foarte crescute ale hormonilor tiroidieni provoacă starea de **tireotxicoză** care poate fi chiar letală.

Tireotxicoza sau hipertiroidismul reprezintă sindromul cauzat de excesul de triiodtironină liberă, de excesul de tiroxină liberă sau de excesul ambilor hormoni. Este o boală relativ frecventă care se întâlnește la aproximativ 2% dintre femei și 0,2% din totalul bărbaților.

Hipofuncția tiroidiană (hipotiroidismul) se manifestă în mod diferit, în funcție de vârsta la care intervine. Astfel, dacă hipotiroidismul intervine în copilărie, el determină apariția bolii numită **cretinism** care se manifestă prin stoparea dezvoltării staturo-ponderale și intelectuale. Înapoierea fizică se manifestă și prin disproporții ale diferitelor părți ale corpului (capul mare, membrele scurte etc.). La pubertate, este stopată și dezvoltarea organelor genitale.

La adult, hipotiroidismul induce apariția bolii numită **mixedem** care se manifestă prin scăderea metabolismului bazal, hipercolesterolemie, infiltrații ale tegumentelor cu substanțe de natură mucoproteică, scăderea randamentului fizic și intelectual, obezitate, tulburări neuropsihice etc.

În regiunile muntoase în care solul și apa sunt sărace în iod există probabilitatea apariției hipotiroidismului secundar care determină boala numită **gușa endemică**. Ea se manifestă printr-o puternică hipertrofie a glandei tiroide, în formele grave glanda putând avea chiar mărimea unui cap de copil.

Mecanismul de acțiune al hormonilor tiroidieni este în strânsă interdependență cu principalul lor rol biochimic – accelerarea reacțiilor de oxidare celulară. Stimularea creșterii concentrației *oxidazelor* celulare se realizează printr-o acțiune relativ lentă a hormonilor tiroidieni asupra transcripției și una relativ rapidă asupra translației. În ultimă instanță, efectul biochimic global al hormonilor tiroidieni pare a se realiza la nivel mitocondrial. Impactul mitocondrial este posibil datorită faptului că hormonii tiroidieni pătrund în celulele țintă unde se leagă reversibil de o proteină nucleară nonhistonică asociată cu cromatina.

Afinitatea receptorului față de T_3 este de 4 ori mai mare decât față de T_4 . Interacțiunea $T_3(T_4)$ – receptor constituie etapa inițială a mecanismului de acțiune care, după 4 – 20 ore de latență, este urmată de accelerarea biosintezei de ARNm, transferul acestuia în citoplasmă și, în fine, activarea enzimelor catenei respiratorii (tabelul 2.2).

Tabelul 2.2

Principalele efecte biochimice ale hormonilor*

Efectul	Perioada de latență (ore)	Durata efectului (ore)
Biosinteza ARNm	4 – 6	22
Activarea ARN-polimerazei A	10 – 12	40
Activarea ARN-polimerazei B	18 – 20	56
Încătenarea aminoacizilor	18 – 24	40 – 45
Biosinteza fosfolipidelor în microsomi	12 – 16	40
Activarea enzimelor mitocondriale	20 – 30	50 – 60

*Aakvaag et al., 1978.

Degradarea hormonilor tiroidieni se realizează prin transaminare cu formarea derivaților piruvici corespunzători. Prin decarboxilarea acestora, se formează derivații acetici care rămân încă mult timp sub formă legată deoarece afinitatea lor față de proteinele nucleare este foarte mare (fig. 2.19).

Activitatea glandei tiroide prezintă multiple corelații glandulare și umorale. Astfel, TSH stimulează toate etapele biosintezei hormonilor tiroidieni: fixarea iodurilor, formarea iodului molecular, hidroliza tiroglobulinei și eliberarea hormonilor activi (Aakvaag et al., 1978).

Stimularea celulelor tiroidei de către TSH se realizează la nivelul a două tipuri de receptori: receptorul adenilat-ciclic AMPc-dependent pentru stimularea secreției hormonilor tiroidieni și receptorul Ca^{2+} -dependent pentru efectele trofice asupra celulelor glandulare.

Cum s-a arătat mai sus, procesele metabolice de biosinteză și degradare a hormonilor tiroidieni asigură, în același timp, atât concentrațiile de T_3 și T_4 necesare funcționării normale a organismului, cât și recircularea iodului în organism (fig. 2.20).

Biosinteza și secreția hormonilor tiroidieni se află sub un strict control hipotalamo-hipofizar (fig. 2.21).

Funcțiile tiroidei sunt în strânsă interdependență și cu funcțiile corticosuprarenalelor sau cele gonadale. Pe de o parte, hormonii tiroidieni stimulează catabolismul cortizolului iar, pe de altă parte, activitatea tiroidiană crește în momentul ovulației. Hormonii tiroidieni mai stimulează catabolismul insulinei și potențează acțiunile catecolaminelor.

În practica medicală, se folosesc produși de sinteză cu acțiune antitiroidiană în tratamentul maladiilor hipertiroidiene. În același timp, studiul plasmalogenelor, clasă particulară a glicerofosfolipidelor, ar putea deschide noi căi în lupta împotriva oxidanților celulari ce ar putea fi folosite, eventual, ca medicație în tratamentul tiroidian (Boeynaems, 1995).

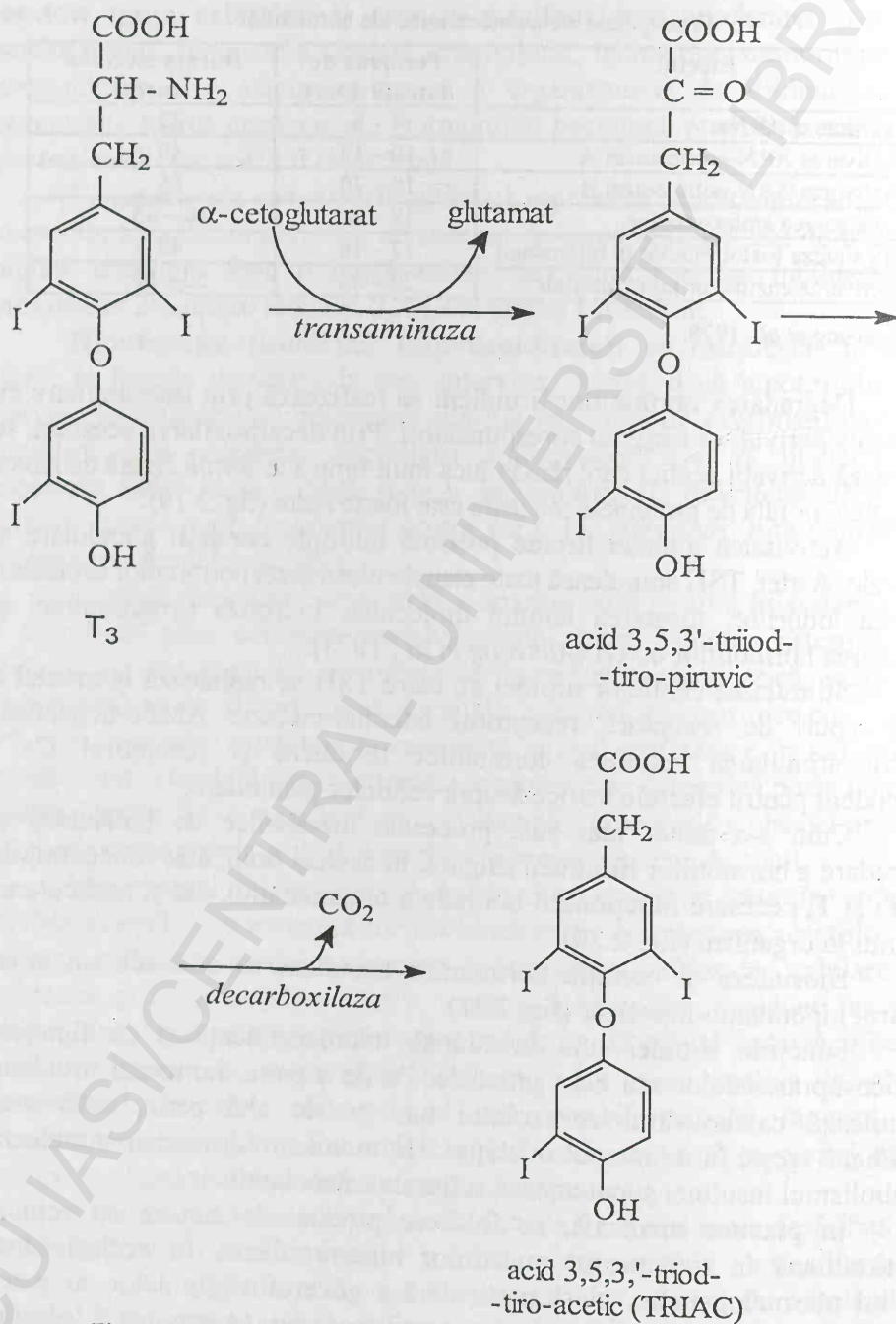


Figura 2.19. Principalele reacții de degradare a hormonilor tiroidieni.

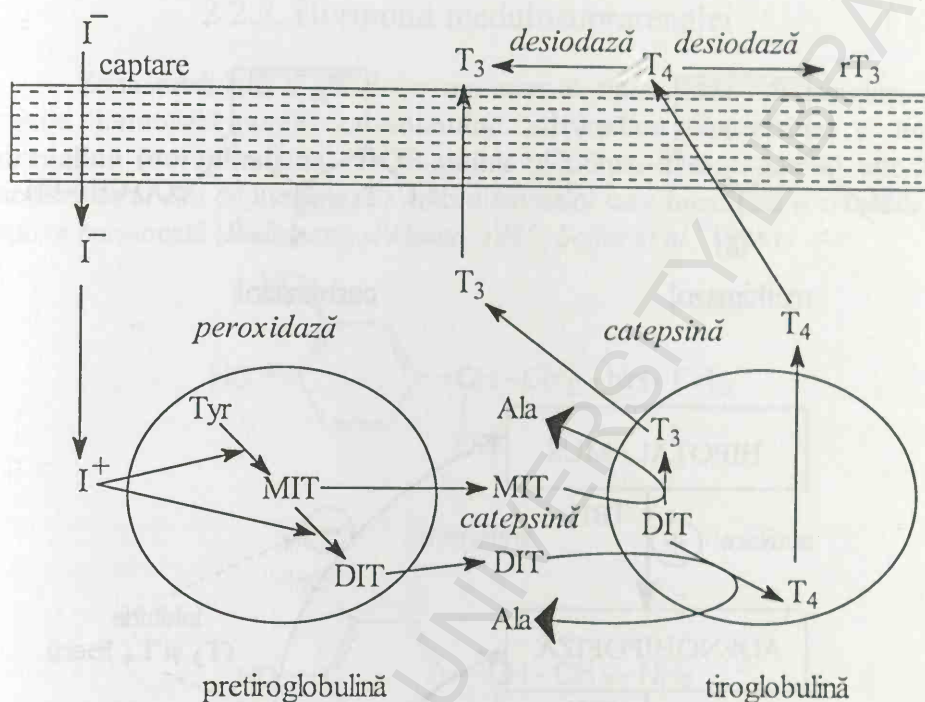
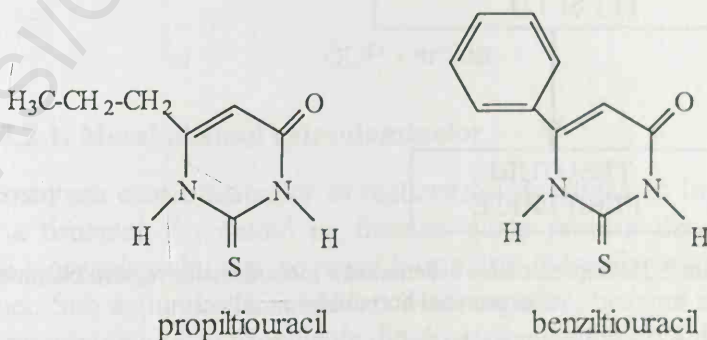
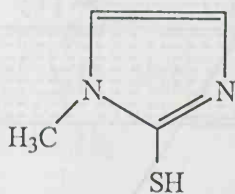


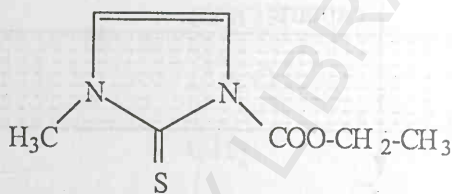
Figura 2.20. Reprezentarea schematică a proceselor de recirculare a iodului în organism (Idelman, 1990).

Cele mai cunoscute preparate medicamentoase din această gamă sunt propiltiouracilul și methimazolul comercializați preponderent în SUA și respectiv benziltiouracilul și carbimazolul folosiți, în principal, în țările Uniunii Europene. Primele trei preparate acționează în mod direct, iar carbimazolul se transformă în organism în methimazol (denumit, de curând, thiamazol) care reprezintă preparatul biologic activ:





methimazol



carbimazol

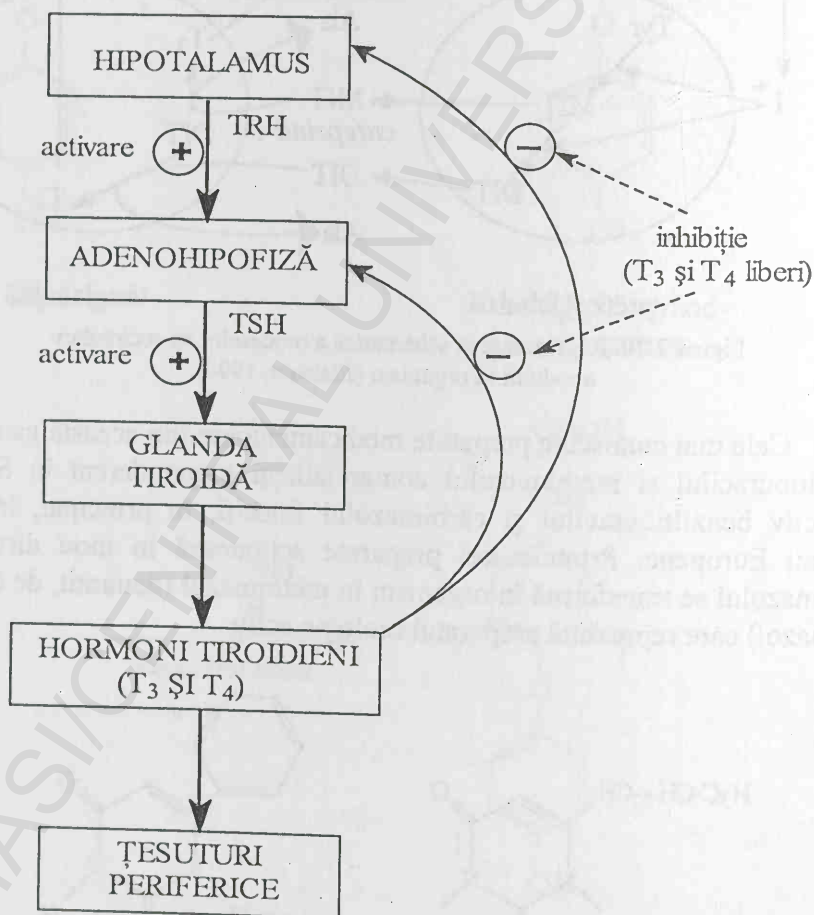
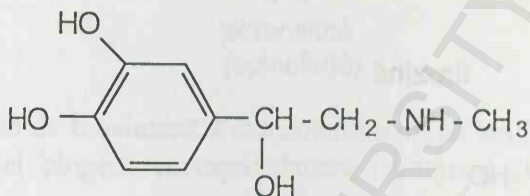


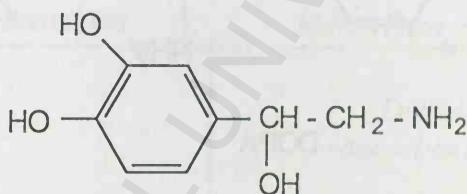
Figura 2.21. Reprezentarea schematică a mecanismelor reglării biosintezei și secreției hormonilor tiroidieni.

2.2.2. Hormonii medulosuprenalei

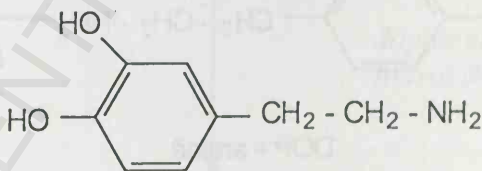
Zona medulară a glandelor suprarenale sintetizează doi compuși cu acțiune hormonală numiți **catecolamine**: **adrenalina (epinefrina)** și **noradrenalina (norepinefrina)**. **DOP-amina** (dihidroxi-fenilet-il-amina) este un intermediar al căii de biosinteză a catecolaminelor care manifestă și o oarecare acțiune hormonală (Bedeleanu și Manta, 1985; Soffer et al., 1998).



adrenalina



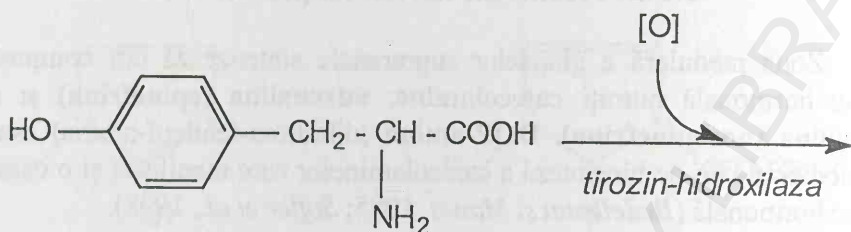
noradrenalina



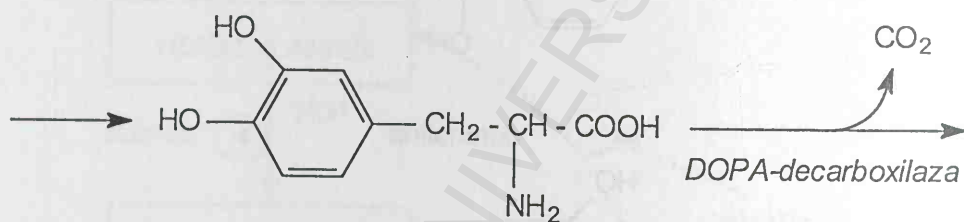
DOP - amina

2.2.2.1. Metabolismul catecolaminelor

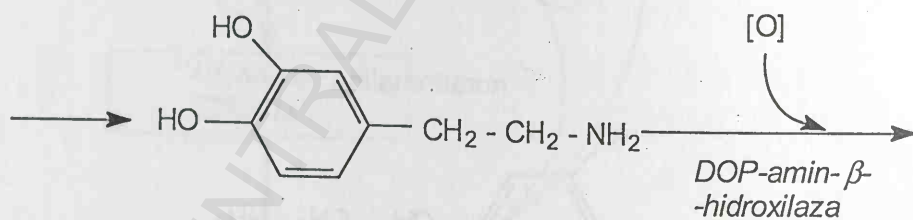
Biosinteza catecolaminelor se realizează prin utilizarea în calitate de precursor a tirozinei. La rândul ei, tirozina poate proveni din rezerva de aminoacizi a organismului, sau se poate forma prin hidroxilarea enzimatică a fenilalaninei. Sub acțiunea *tirozin-hidroxilazei* hepatice, tirozina este oxidată într-o reacție ireversibilă cu formare de dihidroxi-fenilalanină (DOPA):



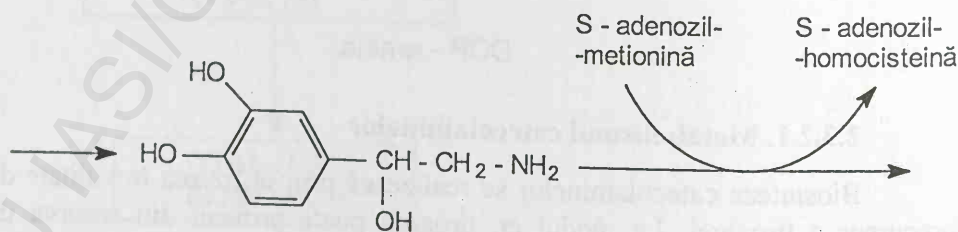
tirozină

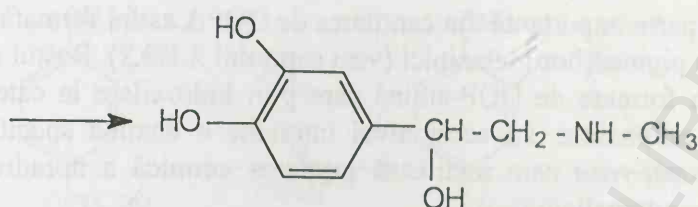


DOPA



DOP - amină

noradrenalină
(norepinefrină)



adrenalină
(epinefrină)

Această cale de biosinteză a catecolaminelor se realizează în paralel cu formarea aminei biogene corespunzătoare (tiramina) și a octopaminei (fig. 2.22).

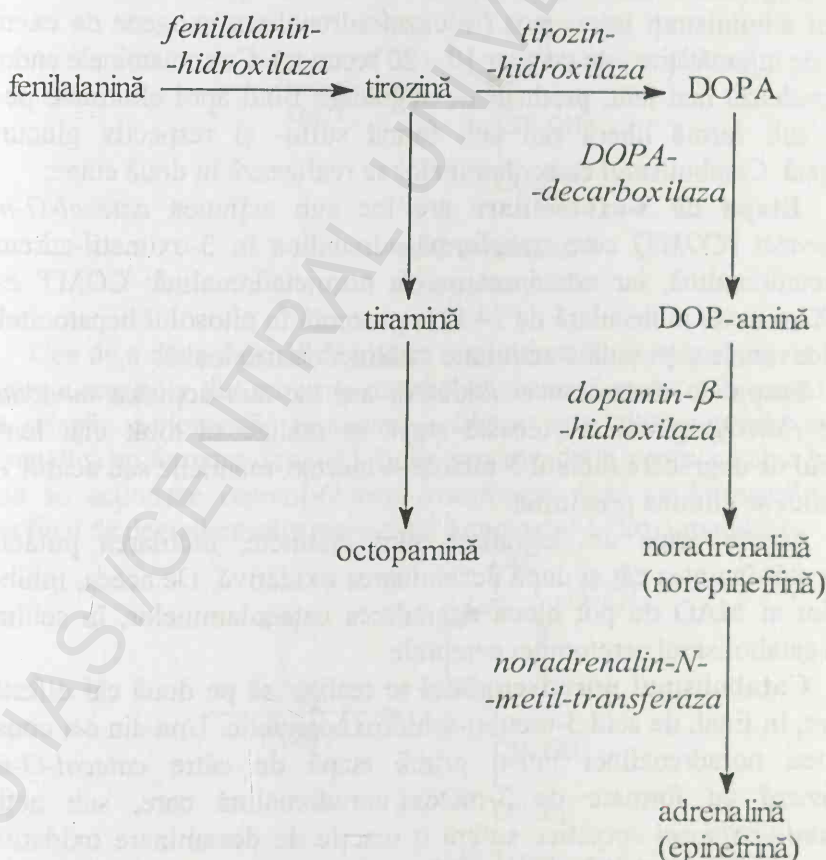


Figura 2.22. Schema generală a căilor de biosinteză a catecolaminelor.

O parte importantă din cantitatea de DOPA astfel formată servește la biosinteza pigmentilor melaninici (vezi capitolul 2.1.2.2). Restul se decarboxilează cu formare de DOP-amină care prin hidroxilare la catena laterală formează adrenalina. La acest nivel intervine o enzimă specifică numită *N-metil-transferaza* care metilează gruparea aminică a noradrenalinei cu formare de adrenalină.

Procesul de biosinteză a catecolaminelor prezintă un mecanism de reglare la nivel molecular prin faptul că adrenalina și noradrenalina funcționează ca inhibitori alosterici ai *tirozin-hidroxilazei* realizând astfel o inhibiție de tip *feed-back*. În condiții fiziologice normale, organismul unui adult secretă zilnic 6 – 10 mg de catecolamine, iar concentrațiile plasmatice normale se situează în jurul valorii de 0,5 µg/l pentru adrenalină și, respectiv, 3 – 5 µg/l în cazul noradrenalinei.

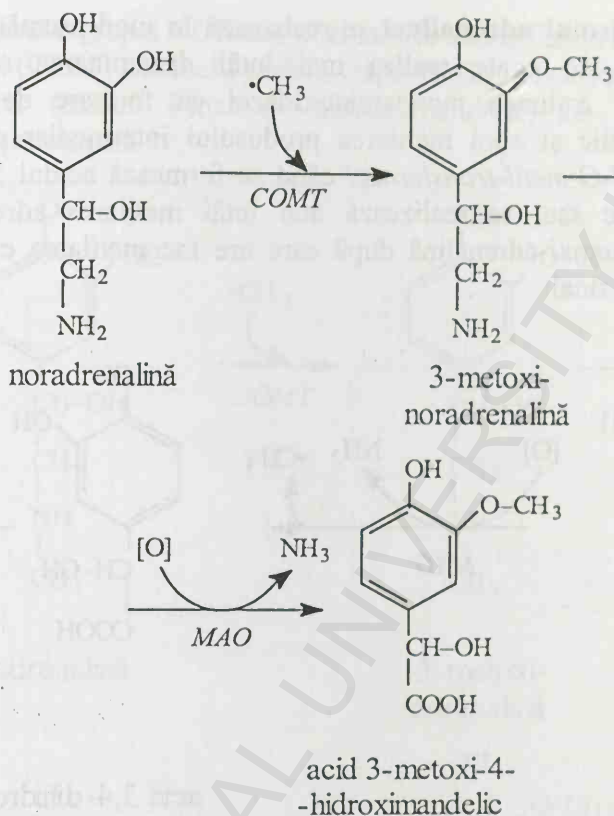
Degradarea catecolaminelor se face foarte rapid în cazul hormonilor exogeni administrați intravenos (în cazul adrenalinei exogene de exemplu, timpul de înjumătățire este de doar 10 – 20 secunde). Catecolaminele endogene se degradează mai lent, produșii de degradare fiind apoi eliminate pe cale renală sub formă liberă sau sub formă sulfo- și respectiv glucurono-conjugată. Catabolismul catecolaminelor se realizează în două etape:

Etapa de 3-oxometilare are loc sub acțiunea *catecol-O-metil-transferazei* (COMT) care transformă adrenalina în 3-oximetil-adrenalină sau metadrenalină, iar noradrenalina în normetadrenalină; COMT este o enzimă cu masa moleculară de 24 kDa prezentă în citosolul hepatocitelor și celulelor renale și posedă o activitate catalitică foarte înaltă.

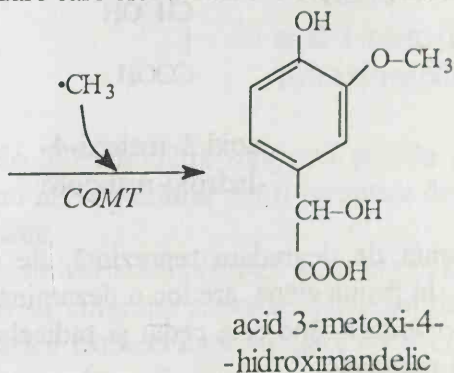
Etapa de dezaminare oxidativă are loc sub acțiunea *monoaminoxidazei* (MAO) specifice. Această etapă se realizează mult mai lent, iar produsul de degradare (acidul 3-metoxi-4-hidroxi-mandelic sau acidul vanil-mandelic) se elimină prin urină.

Aceste etape de degradare sunt distincte, metilarea putându-se realiza atât înaintea cât și după dezaminarea oxidativă. De aceea, inhibitorii specifici ai MAO nu pot bloca degradarea catecolaminelor, în schimb ei inhibă catabolismul serotoninei cerebrale.

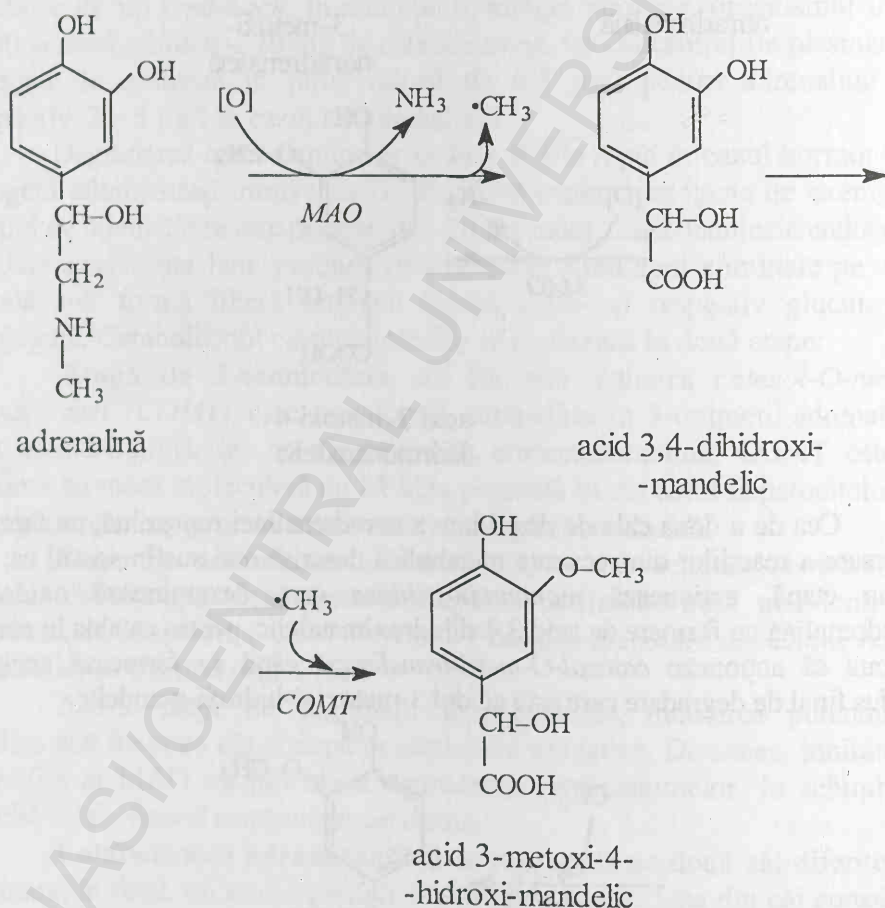
Catabolismul noradrenalinei se realizează pe două căi diferite cu formare, în final, de acid 3-metoxi-4-hidroximandelic. Una din căi constă în metilarea noradrenalinei într-o primă etapă de către *catecol-O-metil-transferază* cu formare de 3-metoxi-noradrenalină care, sub acțiunea *monoamin-oxidazei* specifice suferă o reacție de dezaminare oxidativă, în etapa următoare trecând în produsul final al acestei secvențe catabolice, care este acidul 3-metoxi-4-hidroxi-mandelic:



Cea de a doua cale de degradare a noradrenalinei reprezintă, de fapt, o inversare a reacțiilor din secvența metabolică descrisă mai sus în sensul că, în prima etapă, acționează *monoamin-oxidaza* care dezaminează oxidativ noradrenalina cu formare de acid 3,4-dihidroximandelic, pentru ca abia în etapa a doua să acționeze *catecol-O-metil-transferaza* când se formează același produs final de degradare care este acidul 3-metoxi-4-hidroxi-mandelic:

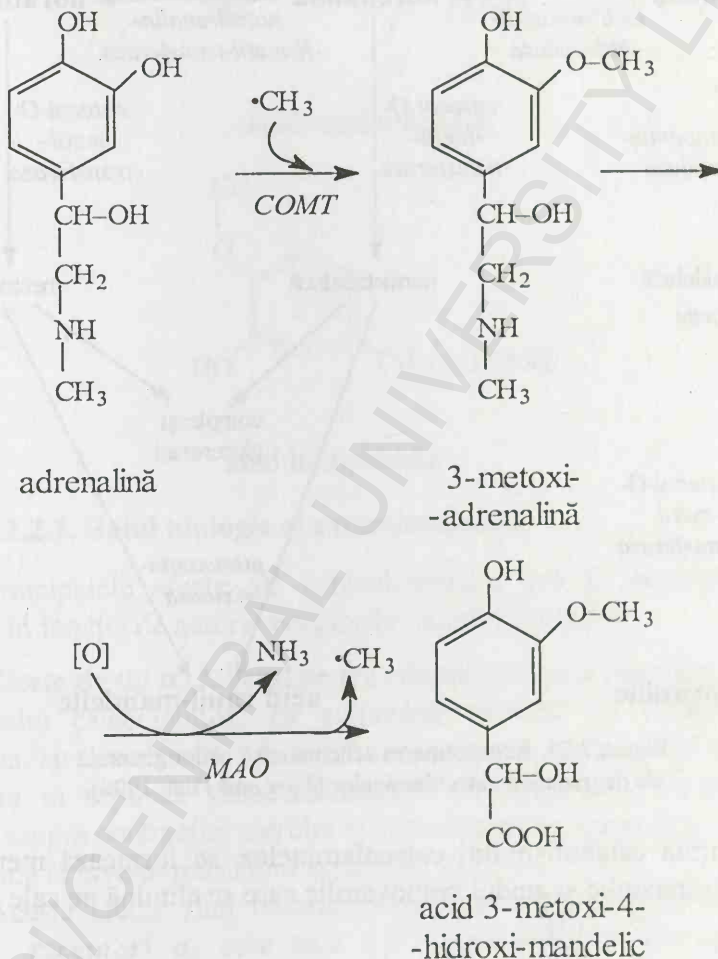


Catabolismul adrenalinei se realizează în mod asemănător. Și în această situație se poate realiza mai întâi dezaminarea oxidativă a adrenalinei sub acțiunea monoaminoxidazei cu formare de acid 3,4-dihidroxi-mandelic și apoi metilarea produsului intermediar obținut sub acțiunea *catecol-O-metil-transferazei* când se formează acidul 3-metoxi-4-hidroxi-mandelic sau, se realizează mai întâi metilarea adrenalinei cu formare de 3-metoxi-adrenalină după care are loc metilarea cu formarea aceluiași produs final:



A doua variantă de degradare reprezintă, de fapt, o inversare a reacțiilor de mai sus. În prima etapă, are loc o dezaminare a adrenalinei sub acțiunea *monoamin-oxidazei* când este cedat și radicalul metil, cu formare de acid 3,4-dihidroxi-mandelic.

Metilarea grupei –OH din poziția *orto* sub acțiunea *catecol-O-metil-transferazei* (COMT) se realizează în etapa următoare cu formarea aceluiasi produs final (acidul 3-metoxi-4-hidroxi-mandelic) ca și în secvența metabolică precedentă:



Catecolaminele din circulația sanguină și cele eliberate la nivelul sinapselor din sistemul nervos central pot fi recaptate de către celule pentru a fi stocate sau degradate.

În primul caz este vorba de neuronii adrenergici din SNC și sistemul nervos vegetativ când se întrerupe stimularea adrenergică datorită absenței unei activități enzimatică extracelulare similare cu *acetilcolin-esteraza*. În cel de-al doilea caz, se realizează transportul catecolaminelor în țesuturile

periferice extra-neurale (mușchi netezi, inimă etc.) și degradarea lor rapidă cu formarea unor produși finali de tipul acidului homovanilic sau a acidului vanil-mandelic (fig. 2.23).

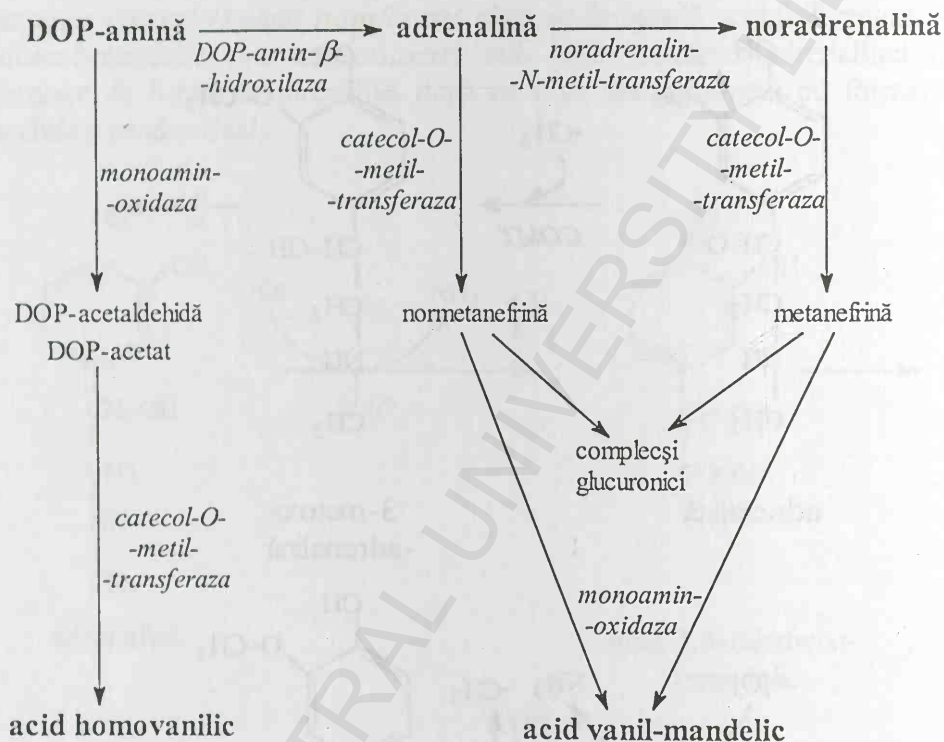
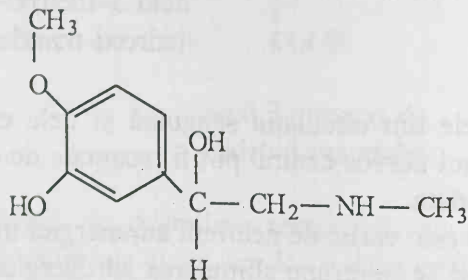
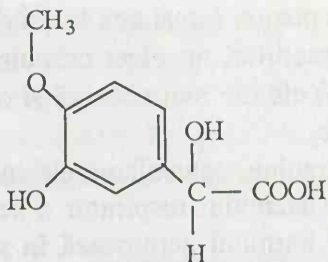


Figura 2.23. Reprezentarea schematică a căilor generale de degradare a catecolaminelor (Voet and Voet, 1990).

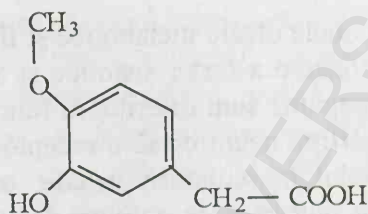
În urma catabolismului catecolaminelor, se formează metanefrina, acidul vanil-mandelic și acidul homovanilic care se elimină pe cale urinară:



metanefrină



acid vanil-mandelic



acid homovanilic

2.2.2.2. Rolul biologic al catecolaminelor

Principalele efecte ale catecolaminelor pot fi împărțite în două categorii în funcție de natura receptorilor acestor hormoni.

Efecte de tip α . Adrenalina are efectele cele mai puternice comparativ cu celelalte catecolamine, ea acționând sinergic cu noradrenalina și fenilefrina, iar fentolamina are acțiune antagonistă. Principalele efecte de tip α constau în acțiunea vasoconstrictoare cu creșterea presiunii arteriale, acțiunea asupra contracției uterului și vezicii urinare, stimularea eliberării de acetilcolină la nivelul mușchilor scheletici etc.

Aceste efecte sunt datorate existenței a două tipuri de receptori specifici: **receptori α_1** care sunt Ca^{2+} -dependenți și întotdeauna post-sinaptici, specifici pentru mușchii netezi și, respectiv, **receptorii α_2** ce pot fi post- și pre-sinaptici, specifici sistemului nervos central. În acest din urmă caz este implicată și acțiunea inhibitoare a AMPc.

Efecte de tip β . În cazul acestui tip de efecte se întâlnește același sinergism al acțiunii adrenalinei și noradrenalinei, iar principalul antagonist este propanololul. Efectele de tip β sunt diverse, ele manifestându-se la nivelul mai multor țesuturi și organe. Astfel, la nivelul inimii catecolaminele

manifestă un efect inotrop pozitiv (creșterea forței de contracție cardiacă) cu creșterea frecvenței contracțiilor, un efect cronotrop pozitiv (tahicardie și creșterea debitului cardiac) etc. Se mai observă și o creștere a excitabilității și conductibilității cardiace.

Asupra vaselor sanguine, catecolaminele manifestă o acțiune vasodilatatoare, iar la nivelul sistemului respirator o acțiune bronhodilatatoare. La nivel muscular, acești hormoni acționează în sensul relaxării uterului, vezicii urinare și sfincterelor intestinale, iar în mușchii striati este stimulată glicogenoliza. Catecolaminele manifestă și o acțiune lipolitică la nivelul țesutului adipos.

Adrenalina are și unele efecte metabolice și fiziologice specifice. La nivel cardiac are loc o creștere a forței sistolice și a debitului cardiac, iar efectele asupra vaselor sanguine sunt diferite, în funcție de țesut sau organ, fapt explicat printr-o repartitie neuniformă a receptorilor α și β în mușchii netezi vasculari. La nivelul musculaturii netede, adrenalina manifestă o acțiune bronhodilatatoare puternică, o acțiune de inhibare a tonusului și peristaltismului intestinal cu spasme ale sfincterelor, splenocontractie și creșterea diurezei.

Creșterea bruscă a secreției de adrenalină are repercusiuni imediate asupra sistemului nervos central, în special prin stimularea hipotalamusului cu creșterea secreției de ACTH hipofizar, când se instalează starea de stres. Acest efect a fost demonstrat prima dată când, în urma injectării de adrenalină, s-a instalat o stare de anxietate.

Din punct de vedere metabolic, adrenalina stimulează hiperglicemia ca urmare a activării glicogenolizei la nivel hepatic.

În practica medicală, adrenalina se utilizează sub formă de preparate injectabile în tratamentul unor boli cardio-circulatorii, în special în asistolie, precum și în șocurile anafilactice de origine alergică. Administrarea se face, însă, cu precauție deoarece orice supradozare poate determina tahicardie și dereglări ale ritmului cardiac.

Adrenalina se injectează intravenos în doze mici, în asociere cu un preparat de contrast în examenele artrografice deoarece prin acțiunea sa, acest hormon întârzie eliminarea substanței de contrast.

2.2.2.3. Reglarea activității medulosuprarenalelor

Medulosuprarenala este singura glandă endocrină supusă unui control preponderent nervos. Principalii centri nervoși adrenalinosecretori sunt localizați la nivel bulbar, excitarea lor determinând o secreție abundentă de catecolamine.

Un exemplu al reglării pe cale nervoasă a secreției de catecolamine îl reprezintă reglarea presiunii arteriale. Răspunsul medulosuprarenalei la modificarea presiunii arteriale nu este, însă, un răspuns direct. Aceste oscilații acționează asupra unor receptori aortici specifici. Reacția umorală este tardivă și ea urmează răspunsului nervos.

2.2.3. Hormonul epifizei

Epifiza, sau glanda pineală este localizată în zona posterioară a diencefalului (epitalamus). Această localizare în centrul creierului a condus în decursul timpului la diverse speculații asupra rolului epifizei. Astfel, *Descartes* considera acest organ ca fiind „sediul” sufletului. Abia la sfârșitul secolului XIX s-a făcut o corelare între tumorile epifizare infantile și **macrogenitosomie** (pubertate precoce). În 1898, *Heubner* consideră pentru prima dată glanda pineală ca fiind glandă endocrină și îi atribuie un rol inhibitor asupra sexualității. Astăzi se cunoaște cu certitudine că această acțiune antigonadotropă reprezintă unul din factorii importanți ai blocajului prepubertar ai funcțiilor gonadotrope.

Epifiza secretă un hormon major, numit **melatonină (MT)** prin intermediul căruia glanda pineală își exercită funcțiile fiziologice specifice.

Melatonina, denumită uneori și „hormonul somnului” este hormonul cel mai important de reglare a ritmurilor cronobiologice (*Lewy et al.*, 2002). Cea mai mare cantitate de melatonină este sintetizată în pinealocite, însă, cantități mici au fost identificate și în retină.

Se găsește, de asemenea, și în unele plante (struguri, orez etc.), aceste alimente putând reprezenta o bună sursă de melatonină exogenă. Un studiu recent (2000) demonstrează faptul că vinul conține cantități importante de melatonină, fapt ce explică, cel puțin parțial, starea de somnolență după un consum mare de vin.

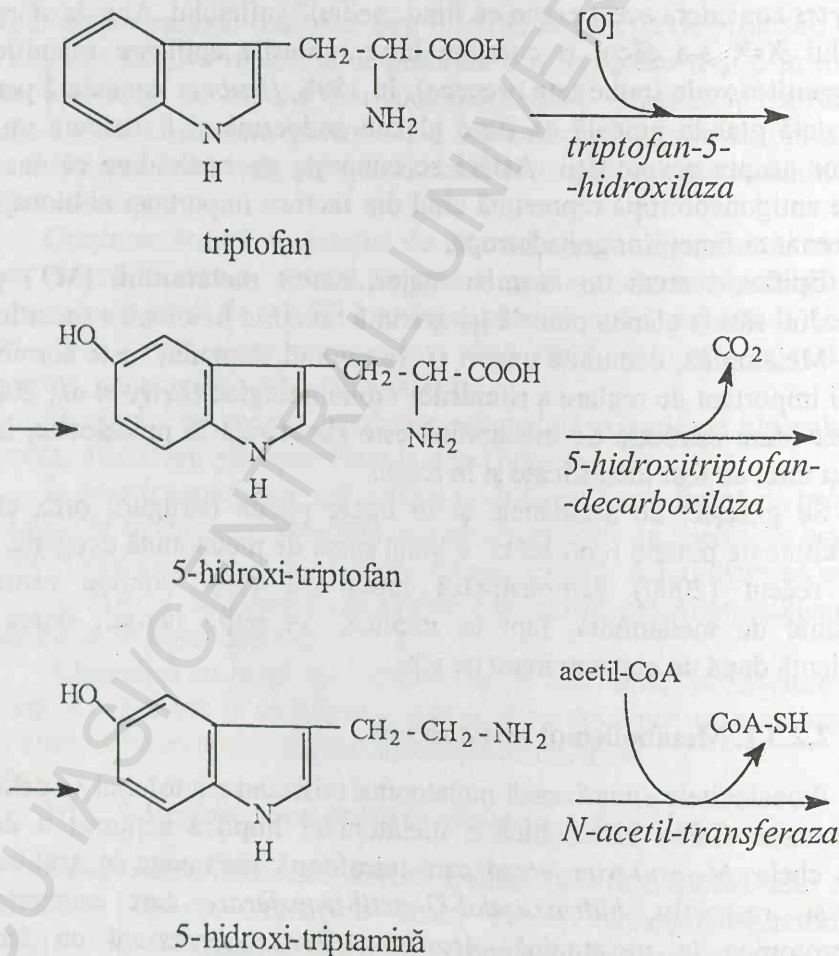
2.2.3.1. Metabolismul melatoninei

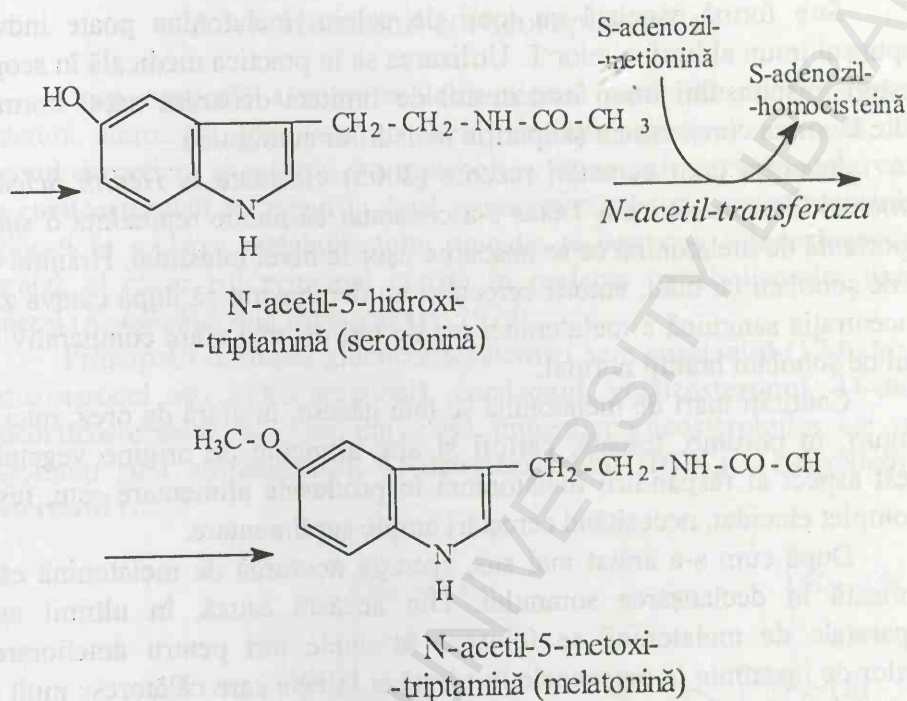
Pinealocitele sintetizează melatonina utilizând triptofanul în calitate de precursor. Calea biosintetică a melatoninei implică acțiunea a două enzime cheie: *N-acetil-transferaza* care transformă serotonina în acetilserotonină și, respectiv, *hidroxi-indol-O-metil-transferaza* care convertește acetilserotonina în melatonină. *Acetil-transferaza* reprezintă un factor limitant al procesului biosintetic deoarece activitatea sa este blocată la

lumină. De aceea, la toate speciile, biosinteza propriu-zisă a melatoninei are loc în timpul nopții, maximul secreției înregistrându-se în jurul orei 5⁰⁰.

În regiunile nordice ale planetei, unde luminozitatea în timpul zilelor este redusă, mai cu seamă în timpul iernii, hiposecreția de melatonină determină apariția asteniei, stărilor de deprimare etc., toate aceste simptome dispărând primăvara, odată cu creșterea perioadei de luminozitate naturală. Nu este exclus ca aceste fenomene să explice, cel puțin în parte, rata relativ crescută a sinuciderilor în țările respective.

Reacțiile enzimatice prin care pinealocitele sintetizează melatonina sunt următoarele:





2.2.3.2. Rolul biologic al melatoninei

Descoperirea melatoninei și a situsurilor sale de legare (în speță cele cerebrale și hipofizare) au reorientat cercetările biochimice și fiziologice asupra funcțiilor glandei pineale.

Melatonina prezintă trei funcții principale, total diferite din punctul de vedere al transformărilor biochimice pe care le stimulează și al efectelor fiziologice. În primul rând ea acționează ca antagonist al MSH prin reglarea pigmentogenezei. În copilărie, melatonina inhibă dezvoltarea organelor sexuale, această funcție fiind anulată complet la pubertate când încep să acționeze hormonii gonadali (Brotto and Gorzalka, 2000).

Un alt rol important al melatoninei îl reprezintă acțiunea de mediere între radiațiile luminoase, sistemul nervos central și diferite funcții biochimice și fiziologice cu realizarea ritmului circadian.

Melatonina este un oxidant puternic ce poate penetra cu ușurință peretele celular și bariera hemato-encefalică. Spre deosebire de alți antioxidanți însă, cum ar fi de exemplu acidul ascorbic, melatonina se oxidează ireversibil, nerealizându-se regenerarea formei sale reduse.

Sub formă asociată cu ionii de calciu, melatonina poate induce răspunsul imun al limfocitelor T. Utilizarea sa în practica medicală în scopul creșterii răspunsului imun este destul de limitată deoarece acest hormon poate favoriza concomitent și apariția maladiilor autoimune.

În urma unor cercetări recente (2005) efectuate la *Health Science Center* al Universității din Texas s-a constatat că nucile reprezintă o sursă importantă de melatonină ce se absoarbe ușor la nivel intestinal. Hrănind un lot de șobolani cu nuci, autorii cercetării au demonstrat că după câteva zile concentrația sanguină a melatoninei era de trei ori mai mare comparativ cu lotul de șobolani hrăniți normal.

Cantități mari de melatonină se mai găsesc, în afară de orez, nuci și struguri, în porumb, tomate, cartofi și alte alimente de origine vegetală. Acest aspect al răspândirii melatoninei în produsele alimentare este, însă, incomplet elucidat, necesitând cercetări ample suplimentare.

După cum s-a arătat mai sus, secreția nocturnă de melatonină este implicată în declanșarea somnului. Din această cauză, în ultimii ani, preparatele de melatonină se folosesc în unele țări pentru ameliorarea stărilor de insomnie la persoanele în vârstă și la cele care călătoresc mult și prezintă insomnii din cauza decalajelor mari de fus orar.

În mod obișnuit, melatonina nu prezintă toxicitate pentru organism chiar și în doze relativ crescute, singurul efect colateral reprezentându-l starea de somnolență. În același timp, melatonina exogenă nu influențează secreția hormonului endogen pe termen scurt și mediu.

Cu toate acestea, administrarea de melatonină asociată cu un inhibitor al *monoaminoxidazei* (IMAO) poate provoca o serie de efecte nedorite datorită faptului că acest inhibitor împiedică absorbția melatoninei. Dozele mari de melatonină mai pot provoca migrene, iar administrarea prelungită poate conduce la dezechilibre hormonale serioase.

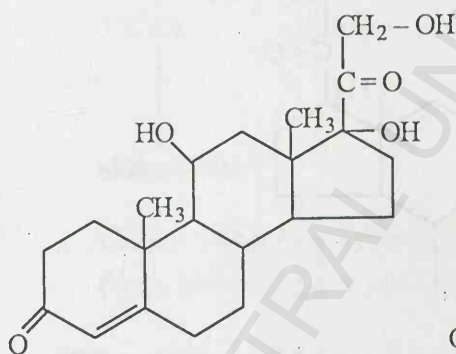
2.3. Hormoni cu structură steroidică

Corticosuprarenalele și gonadele sintetizează și secretă o serie de hormoni cu structură steroidică ce manifestă acțiuni profunde asupra metabolismului și cu funcții fiziologice bine determinate. Căile de biosinteză ale acestor hormoni au drept punct comun de plecare **colesterolul**, care este precursorul tuturor hormonilor de natură steroidică.

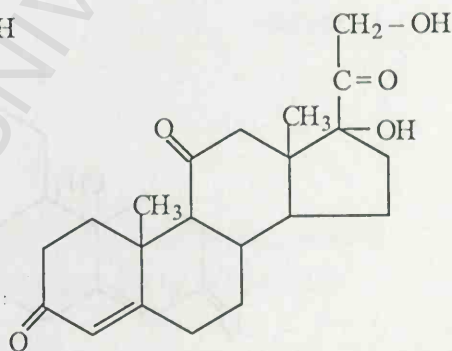
2.3.1. Hormonii corticosuprarenalei

Zona corticală a suprarenalelor secretă peste 40 de compuși cu structură steroidică din care un sfert prezintă acțiune hormonală. Din punctul de vedere al acțiunii lor metabolice, **hormonii corticosuprarenali** sau **corticosteroizii** se împart în două grupe principale: **glucocorticosteroizii**, implicați în reglarea metabolismului glucidic și **hormonii mineralocorticosteroizi**, al căror rol principal constă în reglarea metabolismului hidro-mineral (*Kokshchuk and Pakhmurhyi, 1979*).

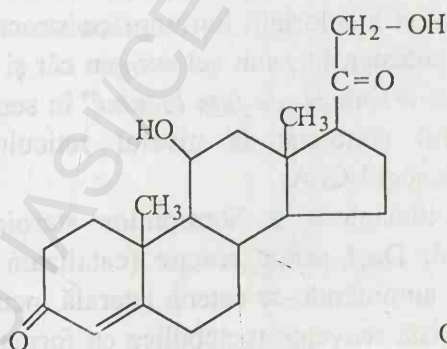
Principalii hormoni glucocorticosteroizi sunt **cortizolul** (17-hidroxicorticosteronul sau hidrocortizonul), **cortizonul**, **corticosteronul**, **11-dehidrocorticosteronul** etc., iar din clasa mineralocorticosteroizilor cei mai importanți sunt **aldosteronul**, **11-deoxicortizolul (DOC)**, **11-deoxicorticosteronul** etc.:



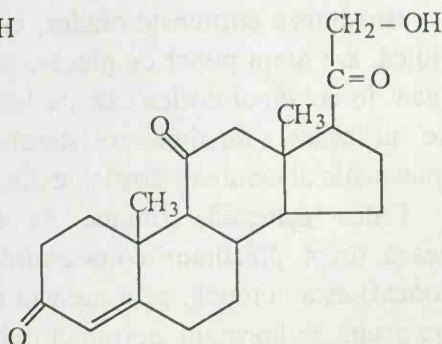
cortizol



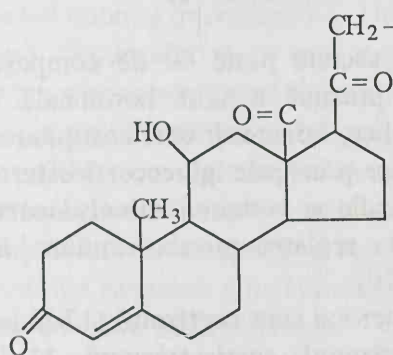
cortizon



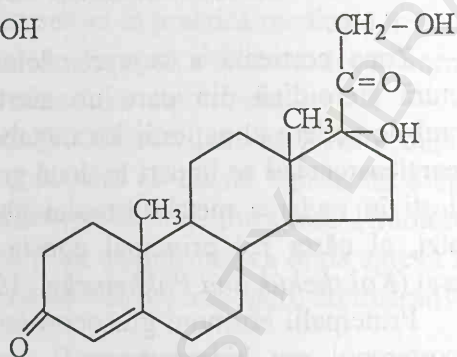
corticosteron



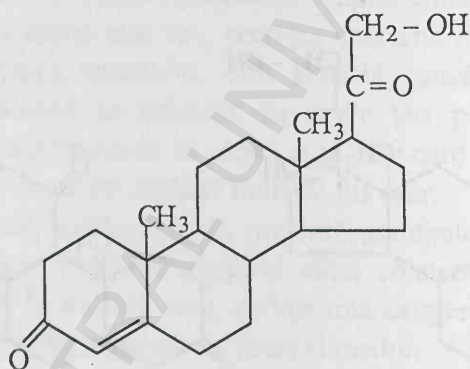
11-dehidrocorticosteron



aldosteron



11-deoxicortizol

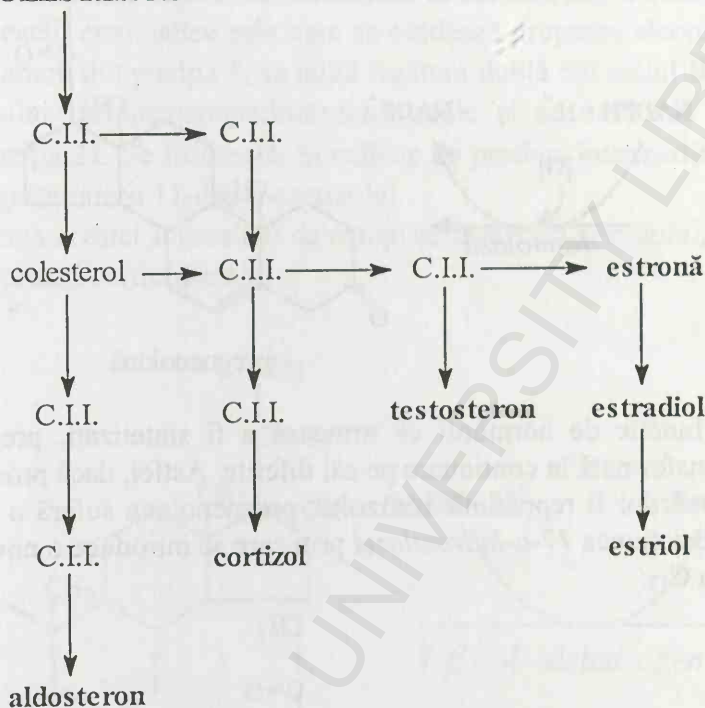


11-deoxicorticosteron

Biosinteza corticosteroizilor, ca și a celorlalți hormoni cu structură steroică, are drept punct de plecare colesterolul, atât cel exogen cât și cel endogen. În cel de-al doilea caz are loc o sinteză „la fața locului” în sensul că se utilizează imediat colesterolul sintetizat la nivelul reticulului endoplasmatic al celulelor corticale din acetyl-CoA.

Calea generală comună de biosinteză a hormonilor steroici utilizează drept precursor colesterolul. Deși prima reacție (catalizată de *desmolază*) este comună, prin aceasta amputându-se catena laterală, pentru fiecare grupă de hormoni steroici există secvențe metabolice cu formarea unor intermediari specifici (fig. 2.24).

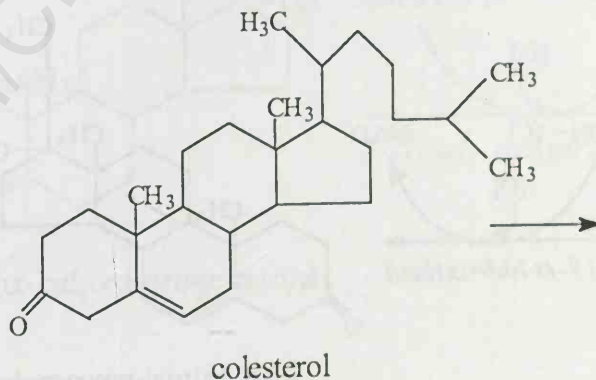
COLESTEROL

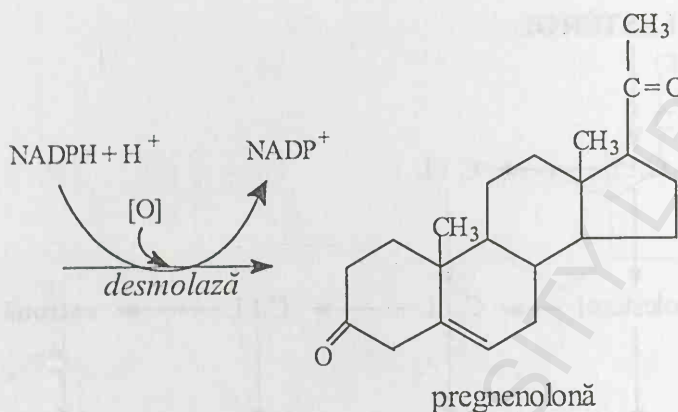


C.I.I. — compus intermediar inactiv (fără acțiune hormonală)

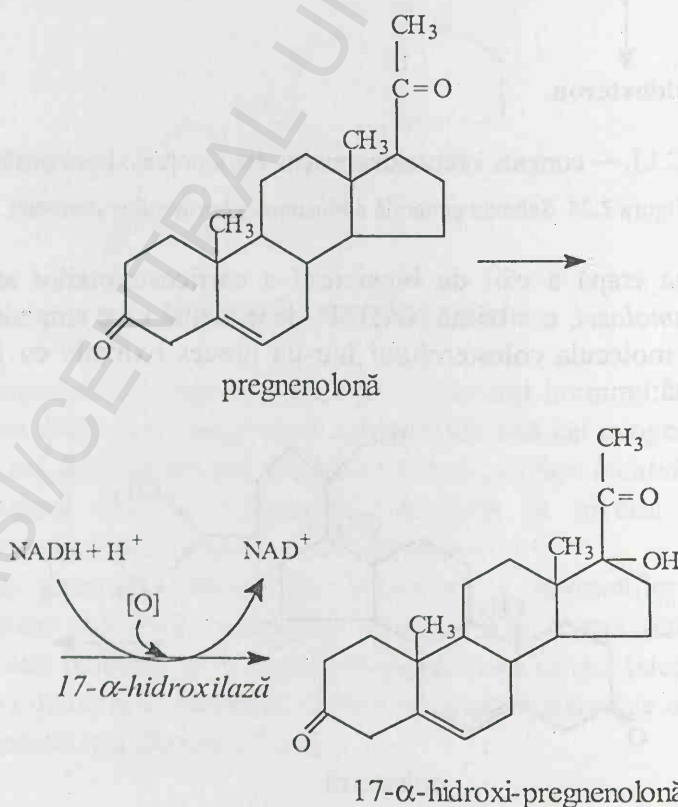
Figura 2.24. Schema generală a biosintezei hormonilor steroidici.

Prima etapă a căii de biosinteză a corticosteroizilor are loc sub acțiunea *desmolazei*, o enzimă NADPH-dependență care amputează catena laterală din molecula colesterolului într-un proces oxidativ cu formare de pregnenolonă:



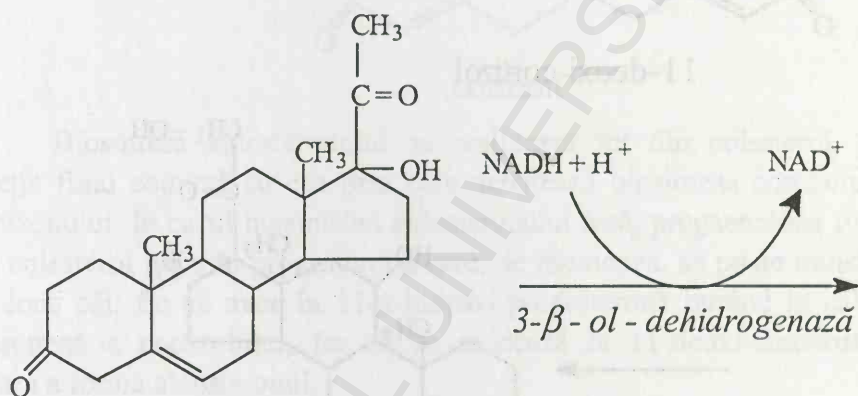


În funcție de hormonii ce urmează a fi sintetizați, pregnenolona poate fi transformată în continuare pe căi diferite. Astfel, dacă produsul final al transformărilor îl reprezintă cortizolul, pregnenolona suferă o reacție de oxidare sub acțiunea *17- α -hidroxilazei* prin care se introduce o nouă grupare alcoolică la C₁₇:

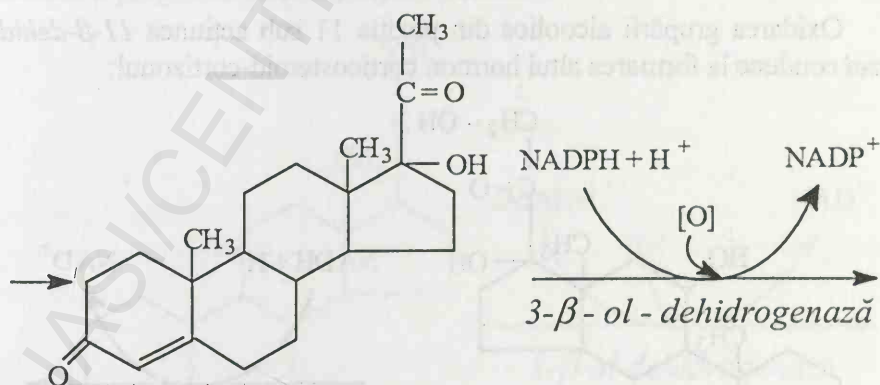


Produsul astfel obținut se transformă în cortizol într-o succesiune de mai multe reacții enzimatice prin care se oxidează gruparea alcoolică de la atomul de carbon din poziția 1, se mută legătura dublă din ciclul B în ciclul A al nucleului ciclopentanoperhidrofenantrenic și se oxidează radicalul metil din poziția 21. Se formează, în calitate de produși intermediari, 17- α -hidroxi-pregesterona și 11-deoxi-cortizolul.

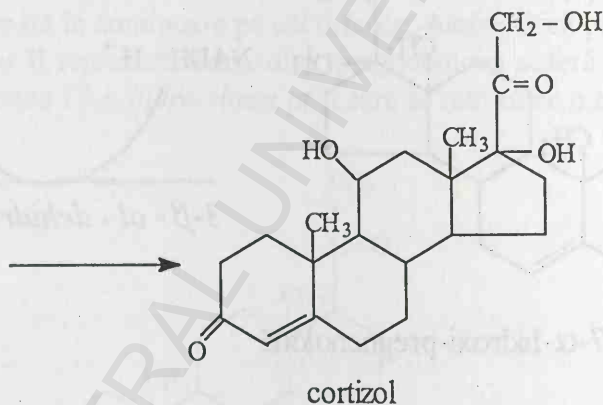
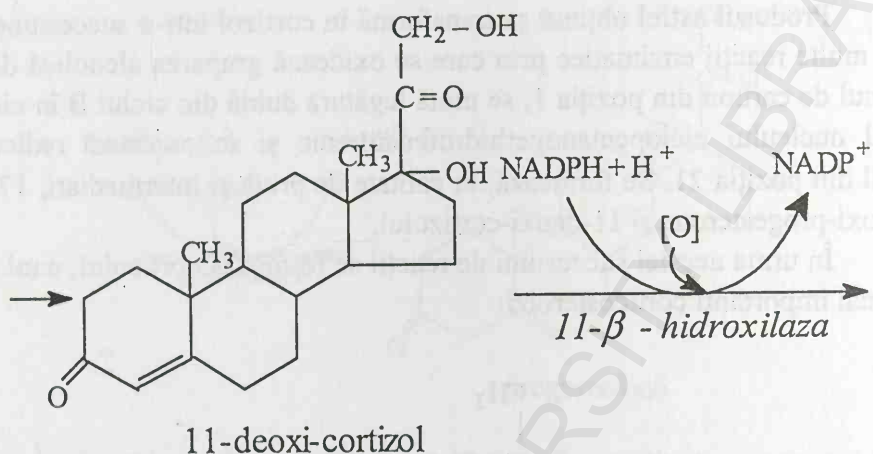
În urma acestei succesiuni de reacții se formează cortizolul, unul din cei mai importanți corticosteroizi:



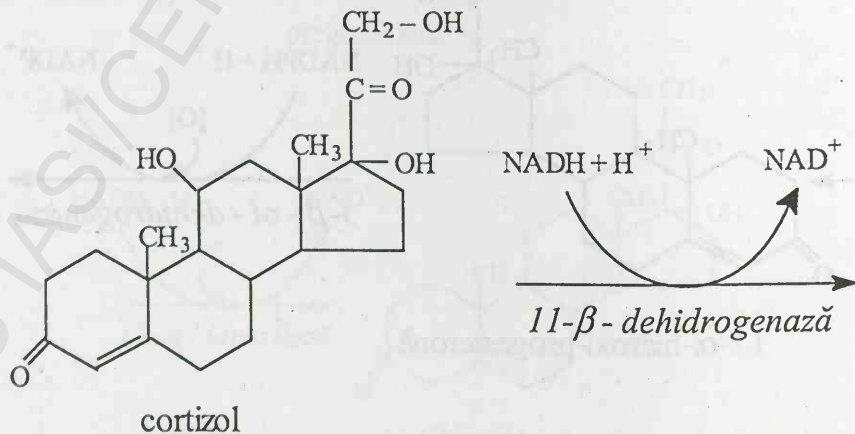
17- α -hidroxi-pregnenolonă

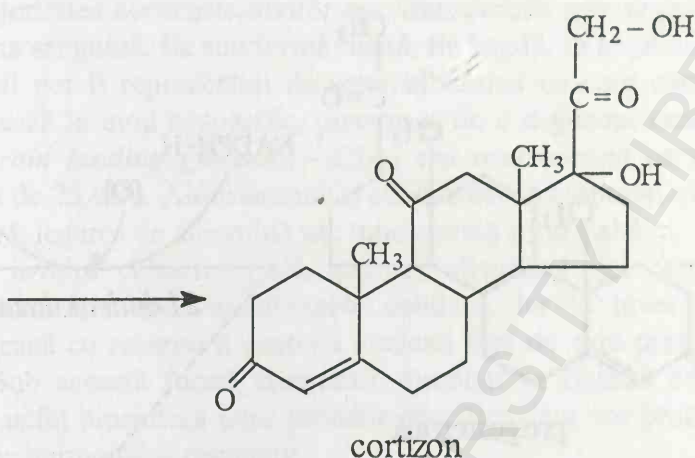


17- α -hidroxi-pregesteronă



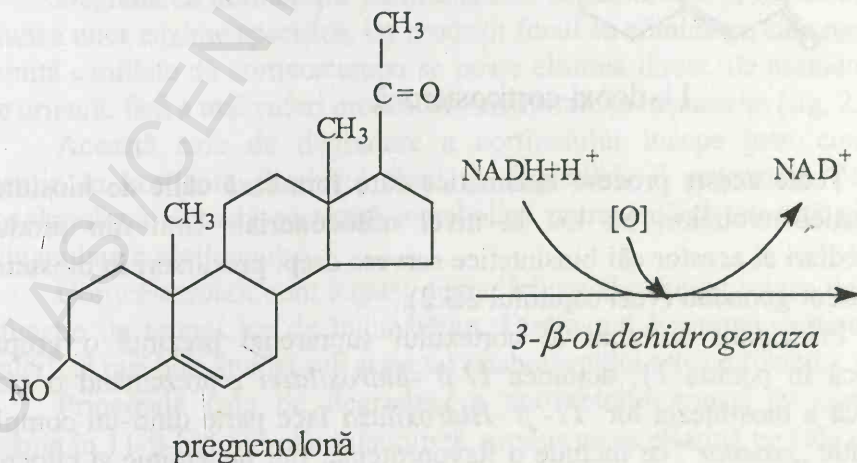
Oxidarea grupării alcoolice din poziția 11 sub acțiunea *11-β-dehidrogenazei* conduce la formarea altui hormon corticosteroid-cortizonul:

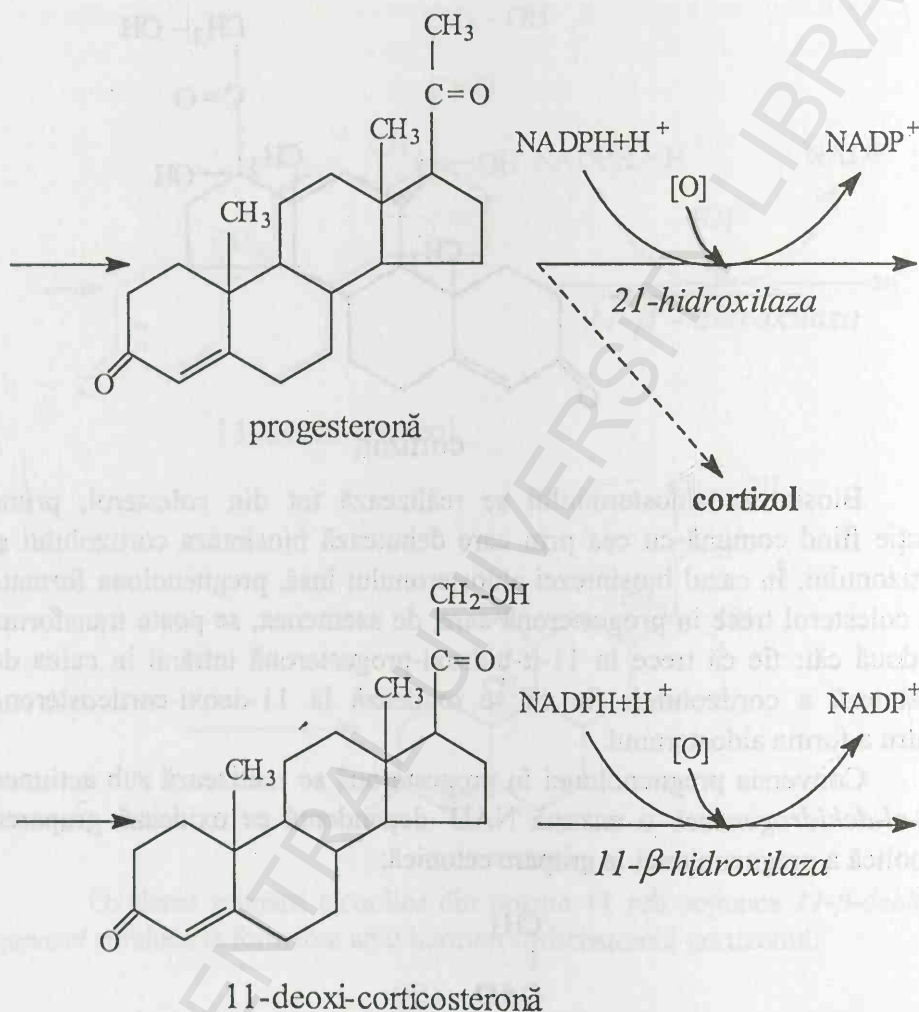




Biosinteza aldosteronului se realizează tot din colesterol, prima reacție fiind comună cu cea prin care debutează biosinteza cortizolului și cortizonului. În cazul biosintezei aldosteronului însă, pregnenolona formată din colesterol trece în progesteronă care, de asemenea, se poate transforma pe două căi: fie că trece în 11- α -hidroxi-progesteronă intrând în calea de biosinteză a cortizolului, fie că se oxidează la 11-deoxi-corticosteronă pentru a forma aldosteronul.

Conversia pregnenolonei în progesteronă se realizează sub acțiunea 3- β -ol-dehidrogenazei, o enzimă NAD^+ -dependentă ce oxidează gruparea alcoolică a pregnenolonei la grupare cetonică:





Toate aceste procese enzimatice care formează căile de biosinteză ale corticosteroizilor, au loc la nivel mitocondrial. Unii din produșii intermediari ai acestor căi biosintetice servesc drept precursori în biosinteza hormonilor gonadali (vezi capitolul 2.3.2).

Principalii hormoni ai cortexului suprarenal prezintă o grupare alcoolică în poziția 11, acțiunea *11-β -hidroxilazei* reprezentând o etapă specifică a biosintezei lor. *11- β -Hidroxilaza* face parte dintr-un complex enzimatic „catenar” ce include o flavoproteină, fier neheminic și citocrom P-450 și este localizată în membrana internă a mitocondriilor.

Majoritatea corticosteroizilor este transportată spre organele țintă de către plasma sanguină, fie sub formă liberă, fie legată. În acest din urmă caz, transportorii pot fi reprezentați de serumalbumină cu care corticosteroizii interacționează în mod nespecific, precum și de o α -glicoproteină specifică (*corticosteroid binding globulin* – Cbg) sau *transcortină* ce are o masă moleculară de 25 kDa. Aldosteronul în schimb este transportat mai mult sub formă liberă, legarea de albumină sau transcortină fiind slabă.

La nivelul celulelor țintă, steroizii disociază din complexii lor proteici traversând apoi membranele celulare, iar la nivel intracelular interacționează cu receptorii proteici nucleari față de care prezintă o mare afinitate. Sub această formă complexă, steroizii se fixează de cromatină stimulând astfel biosinteza unor proteine specifice care vor produce efectul caracteristic hormonului respectiv.

Fixarea hormonului la nivelul cromatinei provoacă și biosinteza unor enzime specifice care induc, la nivelul cromozomilor, biosinteza de ARNm (această acțiune este similară cu cea a ecdizonelor).

În cazul aldosteronului este indusă biosinteza unei Na^+ -permeaze care are rolul de a mări permeabilitatea membranelor celulare față de Na^+ , ceea ce determină o creștere a concentrației intracelulare a acestui ion. Aproximativ 90% din cortizolul plasmatic se află sub formă legată de Cbg, cu care formează interacțiuni reversibile.

Aceste legături reprezintă factorul limitant al acțiunii fiziologice și biochimice a cortizolului deoarece doar forma liberă poate traversa membrana celulară, ea reprezentând, deci, forma activă.

Degradarea hormonilor corticosteroizi se realizează în hepatocite sub acțiunea unor enzime specifice, iar produșii finali se elimină pe cale renală. O anumită cantitate de corticosteroizi se poate elimina direct, de asemenea, pe cale urinară, fără a mai suferi modificări structurale în hepatocite (fig. 2.25).

Această cale de degradare a cortizolului începe prin conversia acestuia în cortizon. Produsul final al degradării îl reprezintă 11-ceto-etiolanolona, această secvență metabolică reprezentând totodată și calea de degradare a cortizonului.

Corticosteroizii sunt supuși degradării catabolice cu viteze variabile în funcție de timpul lor de înjumătățire. Dintre toți hormonii corticosupra-renalei, cel mai bine studiat sub aspectul catabolismului este cortizolul.

Principala cale de degradare a cortizolului constă în conversia acestuia în 11- β -hidroxi-etiolanolonă, produs ce se elimină pe cale urinară (fig. 2.26).

Cortizolul se poate degrada pe trei căi diferite cu formare de 6- β -hidroxi-cortizol, 11- β -hidroxi-etioiolanolonă și, respectiv, 11-ceto-etioiolanolonă.

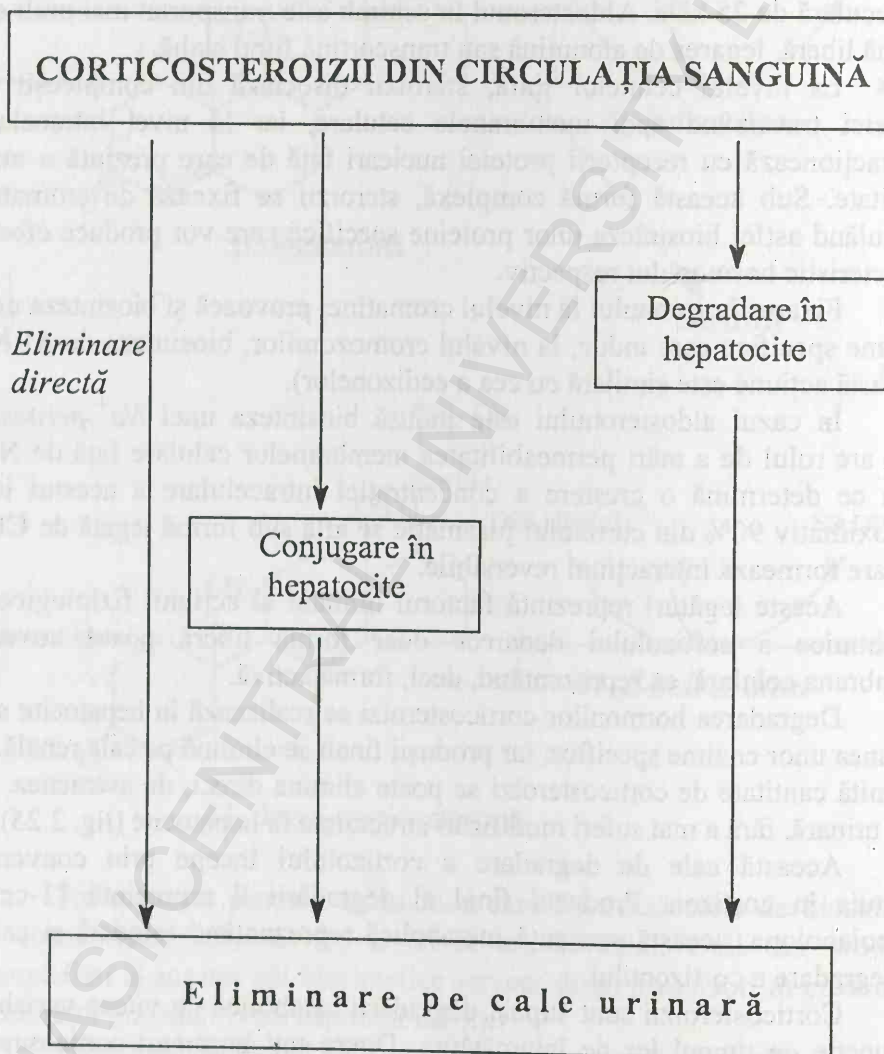


Figura 2.25. Schema generală de degradare și eliminare a hormonilor corticosteroizi.

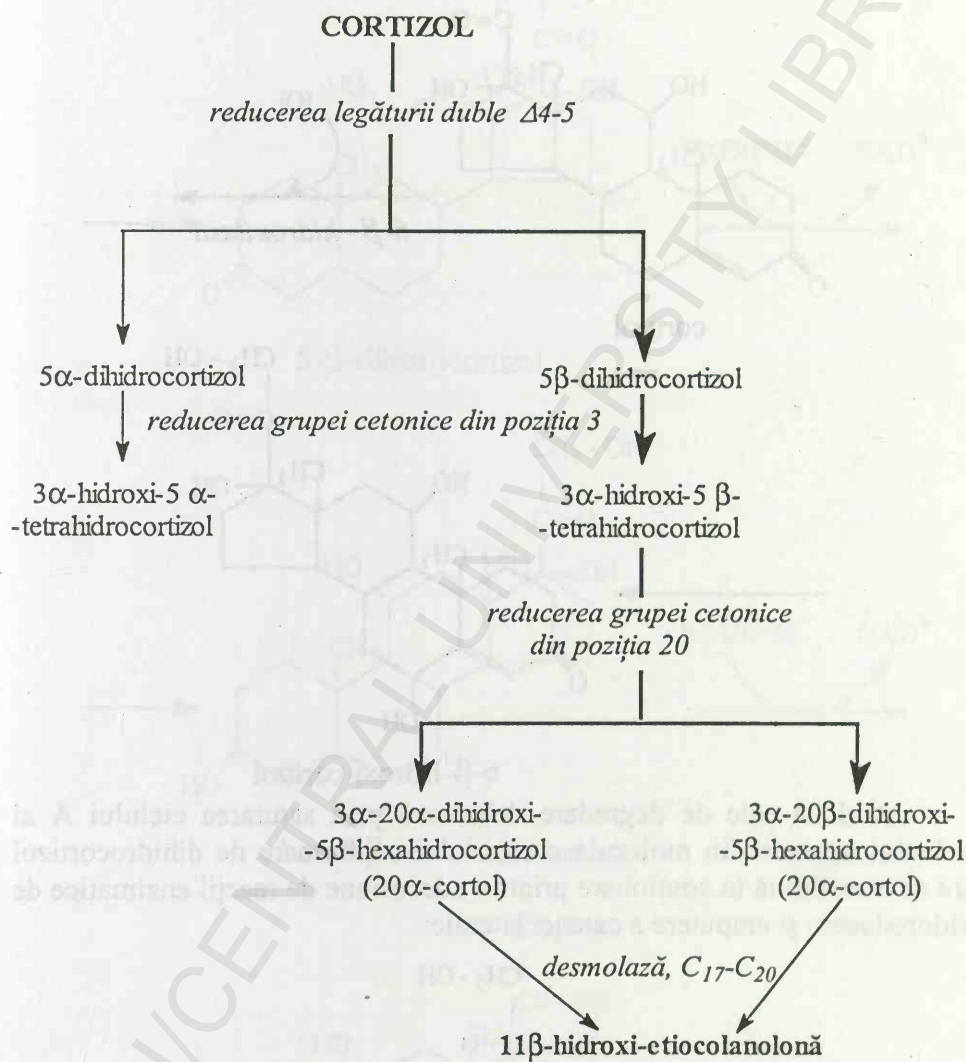
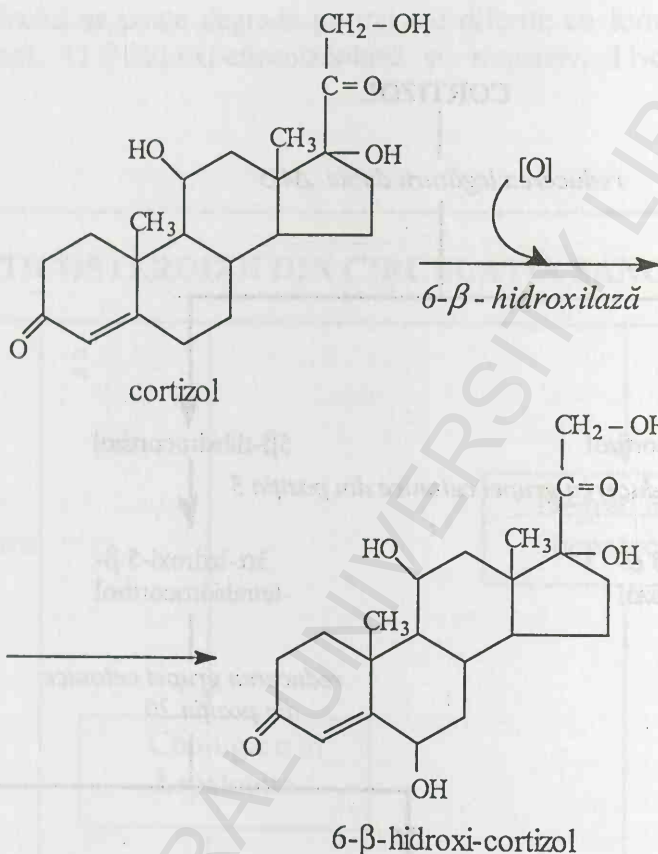
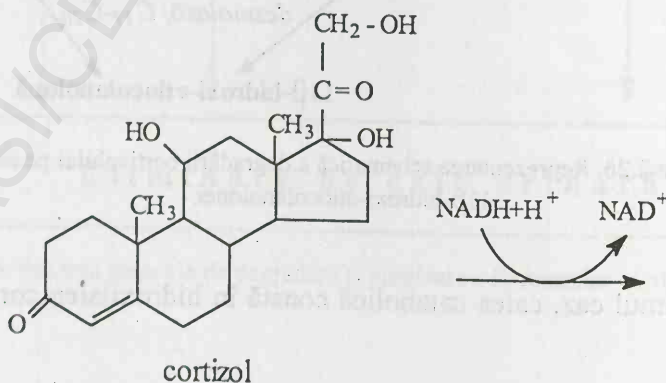


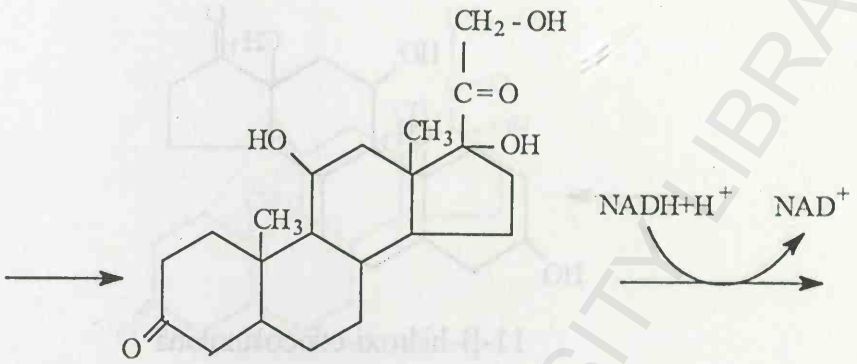
Figura 2.26. Reprezentarea schematică a degradării cortizolului pe calea 11β-hidroxi-etiolanolonei.

În primul caz, calea catabolică constă în hidroxilarea cortizolului la carbonul C₆:

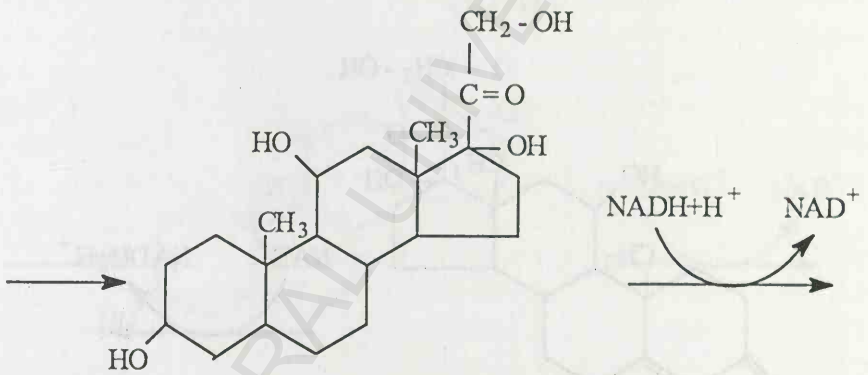


A doua cale de degradare debutează prin saturarea ciclului A al nucleului steric din molecula cortizolului cu formare de dihidrocortizol care se transformă în continuare printr-o succesiune de reacții enzimatice de oxidoreducere și amputare a catenei laterale:

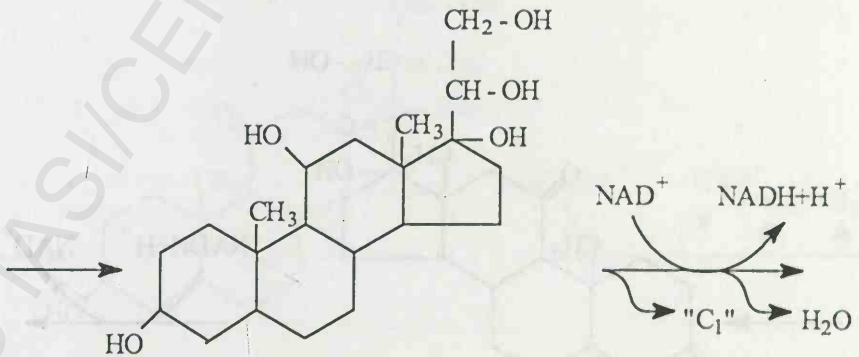




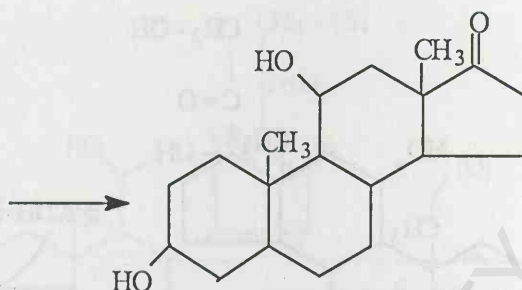
5-β-dihidro cortizol



3-α-5-β-tetra-hidro cortizol

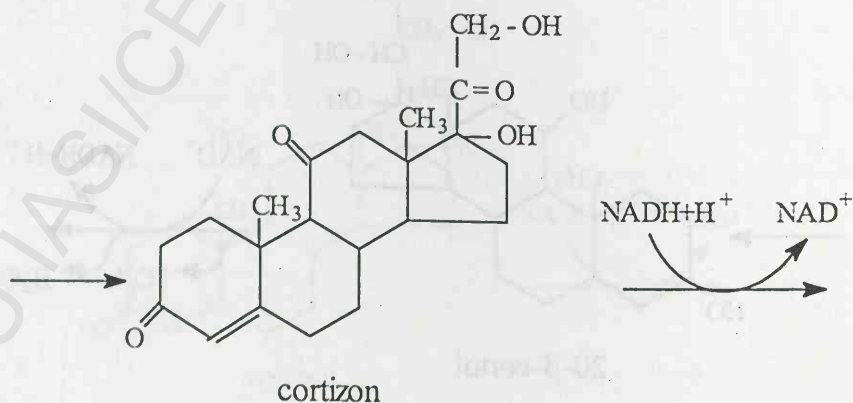
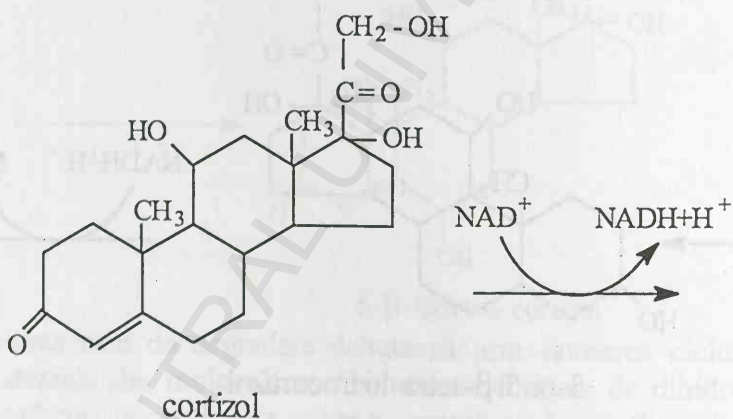


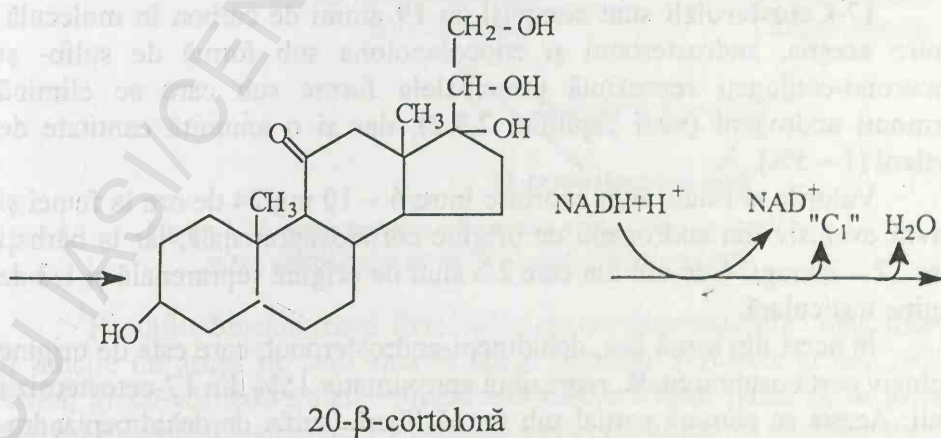
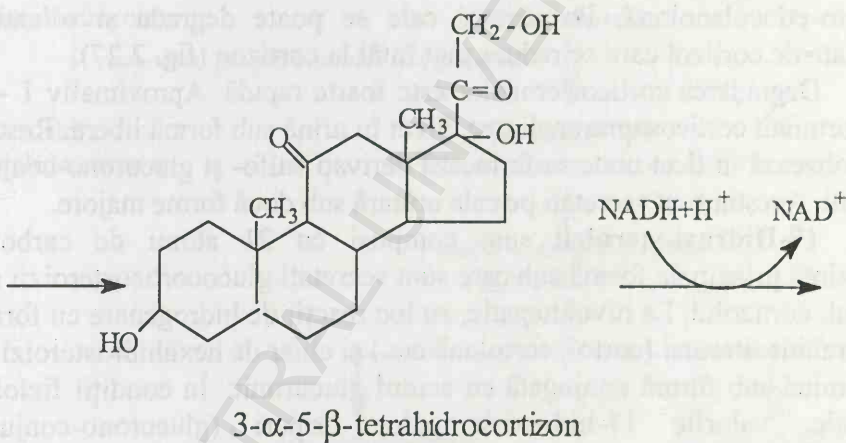
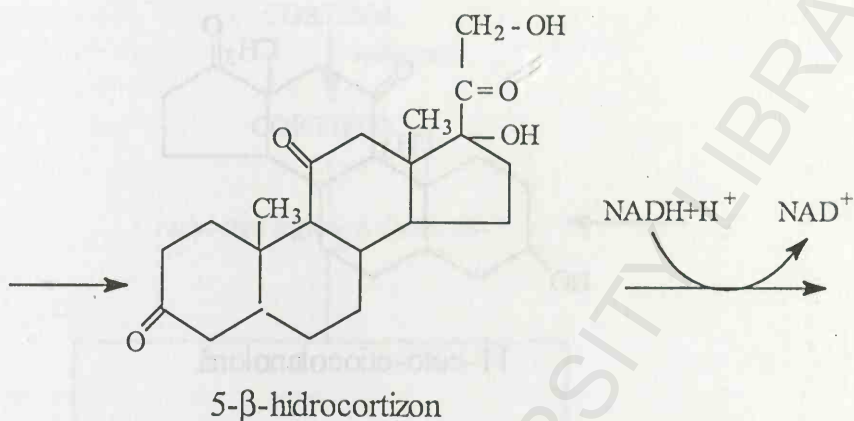
20-β-cortol

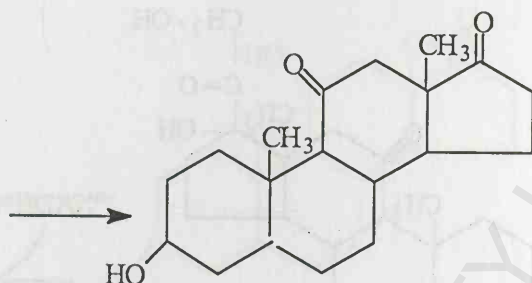


11-β-hidroxi-etiocholanolonă

Prima etapă o reprezintă, deci, conversia cortizolului în cortizon care suferă apoi o serie de procese redox, cu formare de ceto-etiocholanolonă:







11-ceto-eticolanolonă

Principala cale de degradare a cortizonului este cea cu formare de 11-ceto-eticolanolonă. Pe această cale se poate degrada și o anumită cantitate de cortizol care se reduce mai întâi la cortizon (fig. 2.27).

Degradarea corticosteroizilor este foarte rapidă. Aproximativ 1 – 5% din hormonii corticosuprarenali trec direct în urină sub formă liberă. Restul se catabolizează în ficat unde se formează derivați sulfo- și glucurono-conjugați solubili. Aceștia sunt secretați pe cale urinară sub două forme majore.

17-Hidroxi-steroizii sunt compuși cu 21 atomi de carbon și reprezintă principala formă sub care sunt secretați glucocorticosteroizii și, în special, cortizolul. La nivel hepatic, au loc reacții de hidrogenare cu formare de tetrahidrosteroidi (cortol, cortolonă etc.) și chiar de hexahidrosteroidi care se elimină sub formă conjugată cu acidul glucuronic. În condiții fiziologice normale, valorile 17-hidroxisteroidilor urinari (glucurono-conjugați) oscilează între 2 – 5 mg/24 de ore la femei și 4 – 6 mg/24 de ore la bărbați.

17-Cetosteroizii sunt compuși cu 19 atomi de carbon în moleculă. Dintre aceștia, androsteronul și eticolanolona sub formă de sulfo- și glucurono-conjugați reprezintă principalele forme sub care se elimină hormonii androgeni (vezi capitolul 2.3.2), dar și o anumită cantitate de cortizol (1 – 5%).

Valorile normale sunt cuprinse între 6 – 10 mg/24 de ore la femei și provin exclusiv din androgenii de origine corticosuprarenală, iar la bărbați între 12 – 20 mg/24 de ore din care 2/3 sunt de origine suprarenală și 1/3 de origine testiculară.

În acest din urmă caz, dehidroepi-androsteronul, care este de origine exclusiv corticosuprarenală, reprezintă aproximativ 15% din 17-cetosteroizii totali. Acesta se elimină parțial sub formă liberă (sulfat de dehidroepiandrosteron) și parțial sub formă de androstendion.

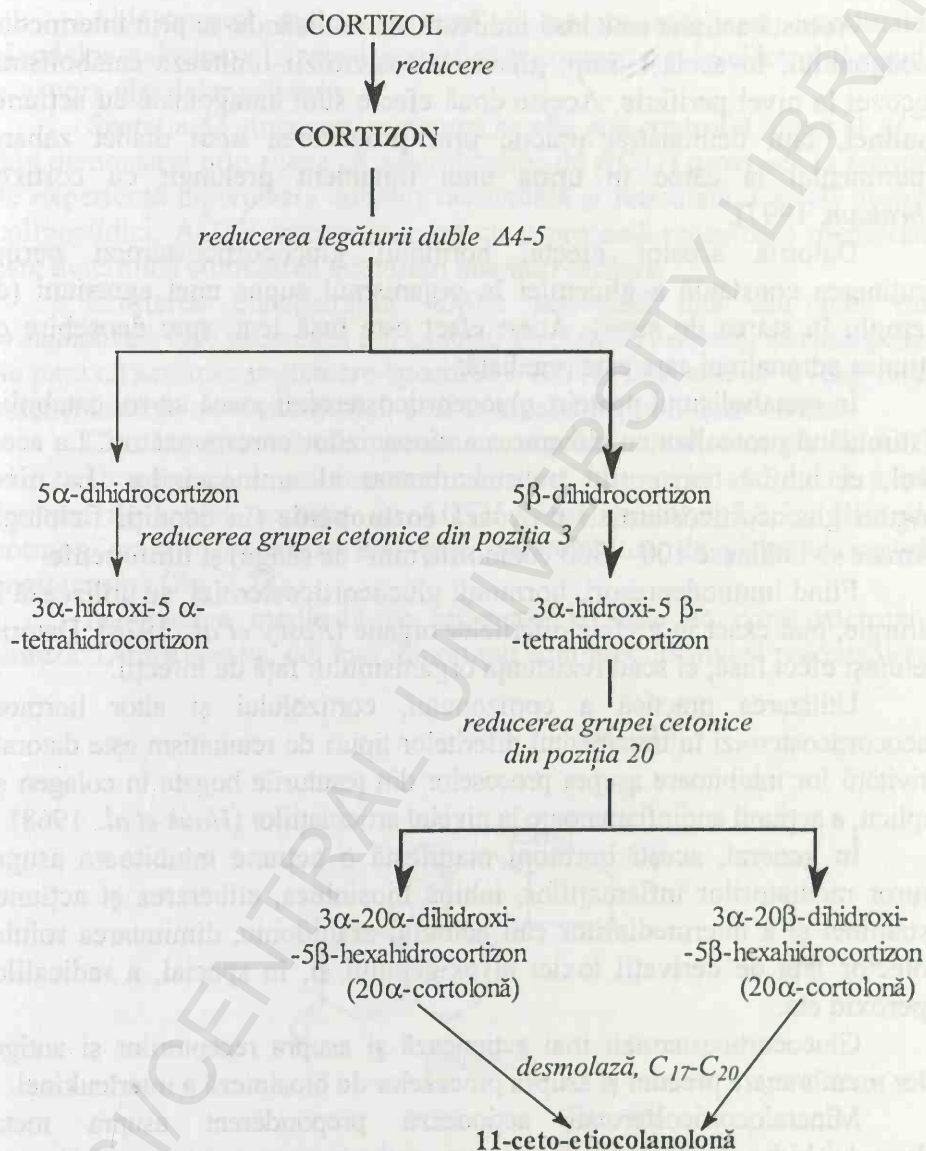


Figura 2.27. Reprezentarea schematică a degradării cortizolului și/sau cortizonului pe calea 11-ceto-etiolanolonei.

Funcțiile biochimice și fiziologice ale corticosteroizilor sunt diferite în funcție de grupa de care aparțin acești hormoni (Husban et al., 1973). Astfel, gluco-corticosteroizii influențează metabolismul bazal și, în primul rând cel glucidic. Ei stimulează gluconeogeneza prin utilizarea aminoacizilor în calitate de precursori (Weber, 1998).

Această acțiune este însă indirectă, ea realizându-se prin intermediul glucagonului. În același timp, glucocorticosteroizii limitează catabolismul glucozei la nivel periferic. Aceste două efecte sunt antagoniste cu acțiunea insulinei, fapt demonstrat practic prin provocarea unui diabet zaharat experimental la câine în urma unui tratament prelungit cu cortizon (Abraham, 1997).

Datorită acestor efecte, hormonii glucocorticosteroizi permit menținerea constantă a glicemiei în organismul supus unei agresiuni (de exemplu în starea de stres). Acest efect este însă lent, spre deosebire de acțiunea adrenalinei care este imediată.

În metabolismul proteic, glucocorticosteroizii joacă un rol catabolic, ei stimulând proteoliza cu eliberarea aminoacizilor corespunzători. La acest nivel, ei inhibă transportul transmembranar al aminoacizilor. La nivel sanguin glucocorticosteroizii provoacă **eozinopenie** (în condiții fiziologice normale se întâlnesc 100 – 300 eozinofile/mm³ de sânge) și **limfopenie**.

Fiind imunodepresori, hormonii glucocorticosteroizi se utilizează în chirurgie, mai exact în grefele diferitelor organe (Posey et al., 1978). Datorită aceluiași efect însă, ei scad rezistența organismului față de infecții.

Utilizarea practică a cortizonului, cortizolului și altor hormoni glucocorticosteroizi în tratamentul diferitelor tipuri de reumatism este datorată activității lor inhibitoare asupra proceselor din țesuturile bogate în collagen și, implicit, a acțiunii antiinflamatoare la nivelul articulațiilor (Houk et al., 1968).

În general, acești hormoni manifestă o acțiune inhibitoare asupra tuturor mediatorilor inflamațiilor: inhibă biosinteza, eliberarea și acțiunea histaminei și a intermediarilor căii acidului arahidonic, diminuarea rolului protector față de derivații toxici ai oxigenului și, în special, a radicalilor superoxid etc.

Glucocorticosteroizii mai acționează și asupra receptorilor și antigenelor membranare precum și asupra proceselor de biosinteză a interleukinei.

Mineralocorticosteroizii acționează preponderent asupra metabolismului hidro-mineral. Dintre aceștia, acțiunea cea mai importantă o are aldosteronul care controlează schimbul ionic între Na⁺ din tubul renal distal și K⁺ filtrat și reabsorbit în tubul proximal, provocând retenția sodiului și mobilizarea potasiului și, implicit, hipernatremie și, respectiv, hipokalemie.

Aldosteronul reglează, de asemenea, schimbul ionic Na⁺/H⁺. În acest sens, el determină o alcaloză extracelulară prin transferul ionilor de H⁺ din mediul intern. Excreția renală de H⁺ este, de asemenea, stimulată, dar reacția urinei rămâne slab alcalină datorită stimulării amoniogenezei.

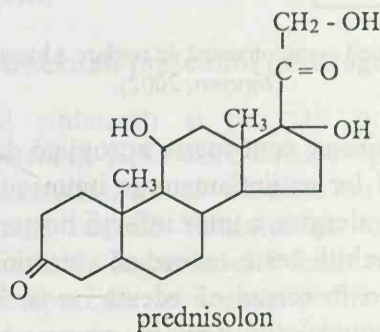
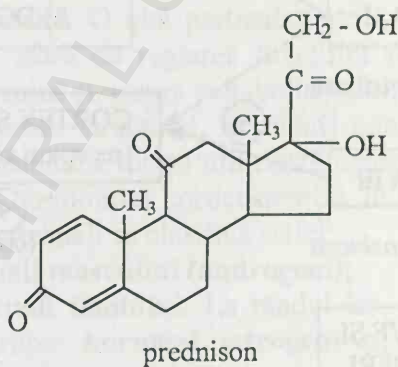
Aldosteronul mai acționează și asupra mucoasei intestinale, a glandelor sudoripare în sensul modificării compoziției în electroliți a sudorii și asupra glandelor salivare.

Secreția de glucocorticosteroizi se află sub controlul direct al ACTH, fapt demonstrat prin aceea că administrarea de ACTH provoacă la animalele de experiență hiperplazia zonelor fasciculată și reticulată. Ca toți hormonii polipeptidici, ACTH interacționează cu o proteină receptoare membranară care determină stimularea activității *adenilat-ciclazei*.

Creșterea concentrației AMPc activează una sau mai multe *proteinkinaze* care generează noi cantități de NADPH necesar steroidogenezei. Se pare că acțiunea reglatoare specifică a ACTH intervine la nivelul clivării catenei laterale a colesterolului, deci la nivelul acțiunii desmolazei.

Cortizolul mobil din circulația sanguină inhibă secreția de ACTH, realizându-se deci și un retrocontrol, efect absent la androgeni a căror creștere nu inhibă secreția de ACTH (vezi capitolul 2.3.2). Biosinteza hormonilor corticosteroizi mai este controlată și de sistemul renină – angiotensină (fig. 2.28).

În practica medicală se utilizează o serie de corticosteroizi de sinteză. Dintre aceștia, cei mai importanți sunt prednisonul și prednisolonul:



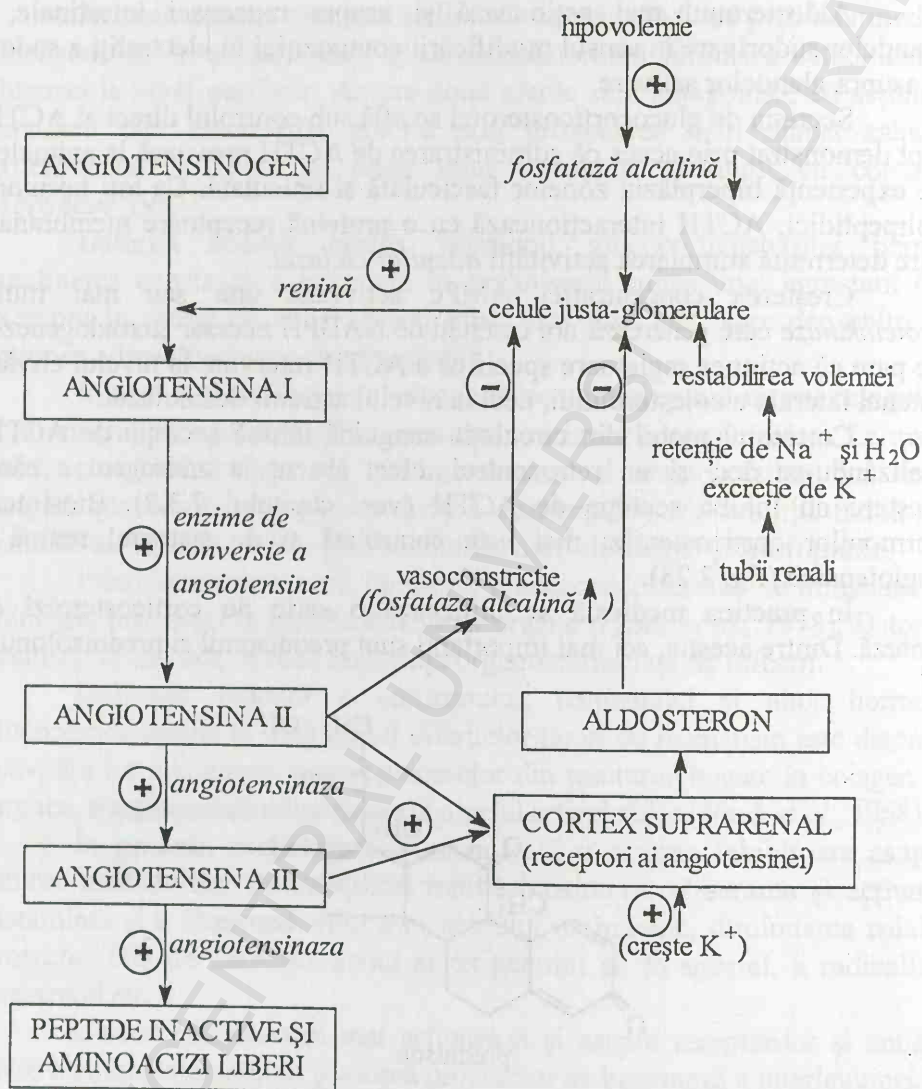


Figura 2.28. Sistemul renină – angiotensină de reglare a biosintezei corticosteroizilor (Nguyen, 2002).

Formulele lor chimice sunt foarte apropiate de cea a cortizolului. Se folosesc datorită acțiunii lor antiinflamatoare imunosupresoare în tratamentul reumatismului, artrozei, alergiei, a unor infecții bacteriene etc.

O atenție deosebită este acordată terminării tratamentului cu prednison și prednisolon în sensul că acesta nu se întrerupe brusc. În caz contrar, datorită retrocontrolului negativ asupra sistemului hipotalamo-

hipofizar, există pericolul unei atrofii a glandelor suprarenale. Din această cauză, încetarea tratamentului se face prin diminuarea progresivă a dozei într-un interval de timp care depinde de durata tratamentului în ansamblu.

2.3.2. Hormonii gonadali

Spre deosebire de toate celelalte glande endocrine care sintetizează și secretă hormoni identici din punct de vedere structural și funcțional la ambele sexe, gonadele secretă hormoni diferiți, specifici fiecărui sex. Hormonii gonadali sunt secretați, în principal, de testicule și, respectiv, ovare, gonadele având o funcție secretoare dublă.

Una dintre ele constă în producerea de spermatozoizi la masculi și ovule la femele, iar a doua funcție este tipic endocrină și constă în secreția de hormoni sexuali.

Deși sunt secretați preponderent de către gonade, hormonii sexuali pot fi sintetizați și secretați și de alte glande sau țesuturi aglandulare. De exemplu, hormonii sexuali masculini sunt sintetizați și secretați de către testicule, dar ei pot fi sintetizați și de către corticosuprarenală, ovare și placentă.

În mod similar, hormonii sexuali feminini sunt secretați preponderent de ovare, dar și de placentă. O altă particularitate a hormonilor gonadali constă în faptul că, în afară de reglarea funcțiilor organelor sexuale, ei manifestă o acțiune puternică și asupra metabolismului.

Din punct de vedere structural, hormonii gonadali sunt de natură steroidică, iar pentru biosinteza lor se utilizează colesterolul în calitate de precursor, ca și în cazul hormonilor corticosteroizi. În funcție de activitatea lor biologică, hormonii gonadali se clasifică astfel:

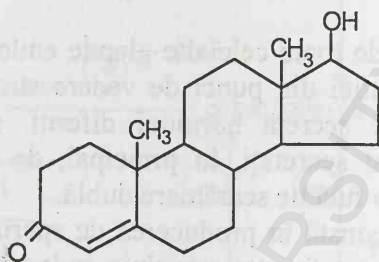
a) hormoni sexuali masculini (androgeni);

b) hormoni sexuali feminini. La rândul lor, aceștia din urmă se împart în alte două grupe: **hormoni estrogeni** și, respectiv, **hormoni gestageni** sau **progestageni**.

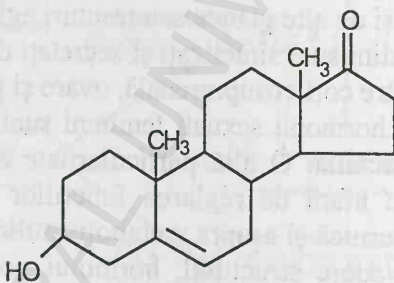
2.3.2.1. Hormonii sexuali masculini (androgeni)

Androgenii sunt sintetizați și secretați preponderent de către testicule, dar ei pot fi secretați și de către corticosuprarenale și ovare. Cu toate acestea, efectul masculinizant al acestora nu se produce decât la mascul deoarece hormonii sexuali feminini au o acțiune antagonistă androgenilor, iar masculinizarea organismului femel nu se produce decât în diferite cazuri patologice speciale. În aceeași ordine de idei, cantitatea și viteza de biosinteză a androgenilor în organismul femel sunt net inferioare.

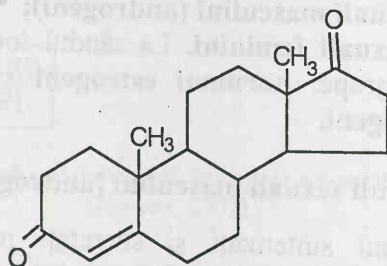
Androgenii sunt sintetizați de către celulele interstițiale Leydig ale testiculelor în căi metabolice specifice, plecând de la colesterol. Cel mai important hormon androgen sub aspect cantitativ și funcțional este testosteronul, dar funcții similare sunt îndeplinite și de către dehidroepiandrosteron, androstendion etc.



testosteron



dehidroepiandrosteron

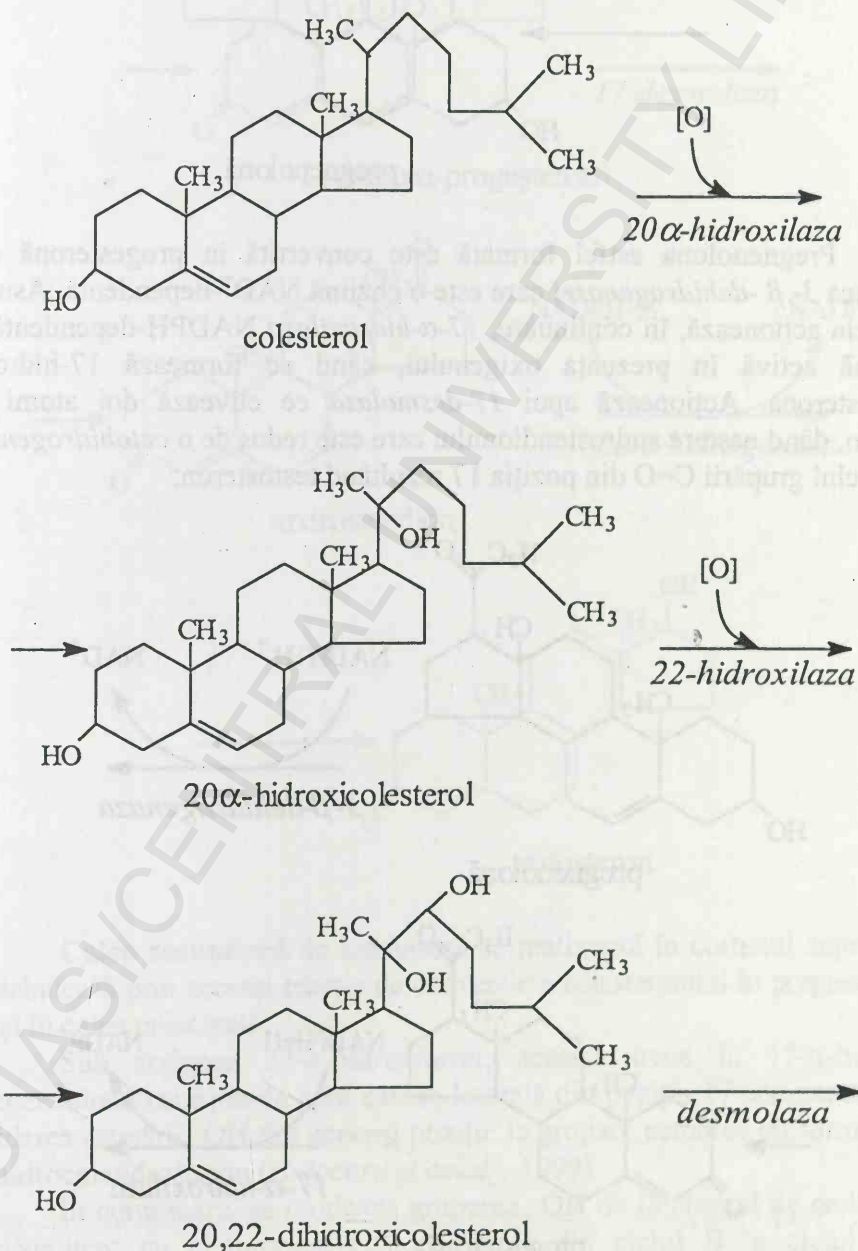


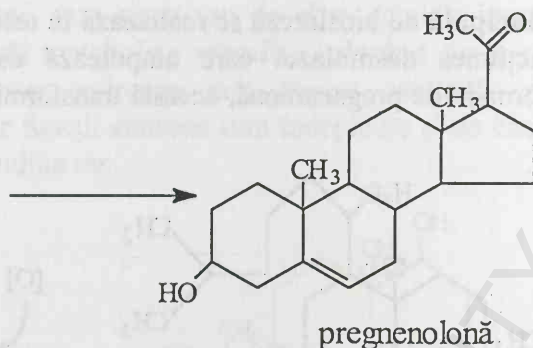
A

androstendion

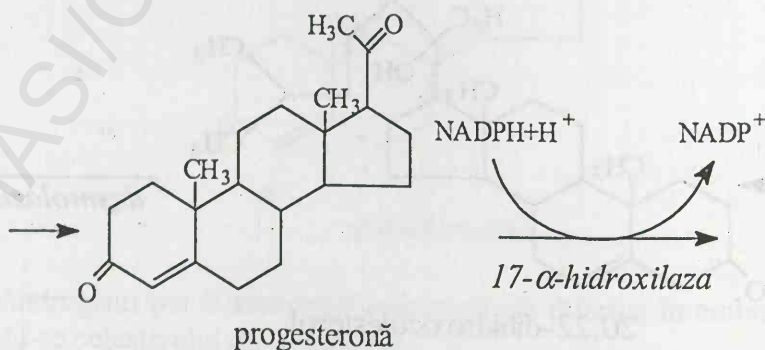
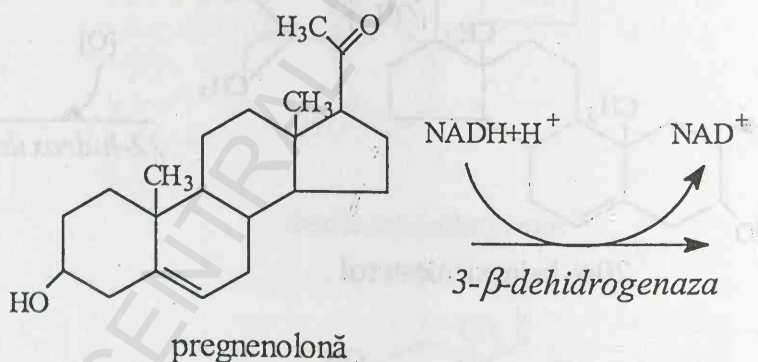
Androgenii pot fi sintetizați prin două căi diferite, în ambele cazuri utilizându-se colesterolul drept precursor.

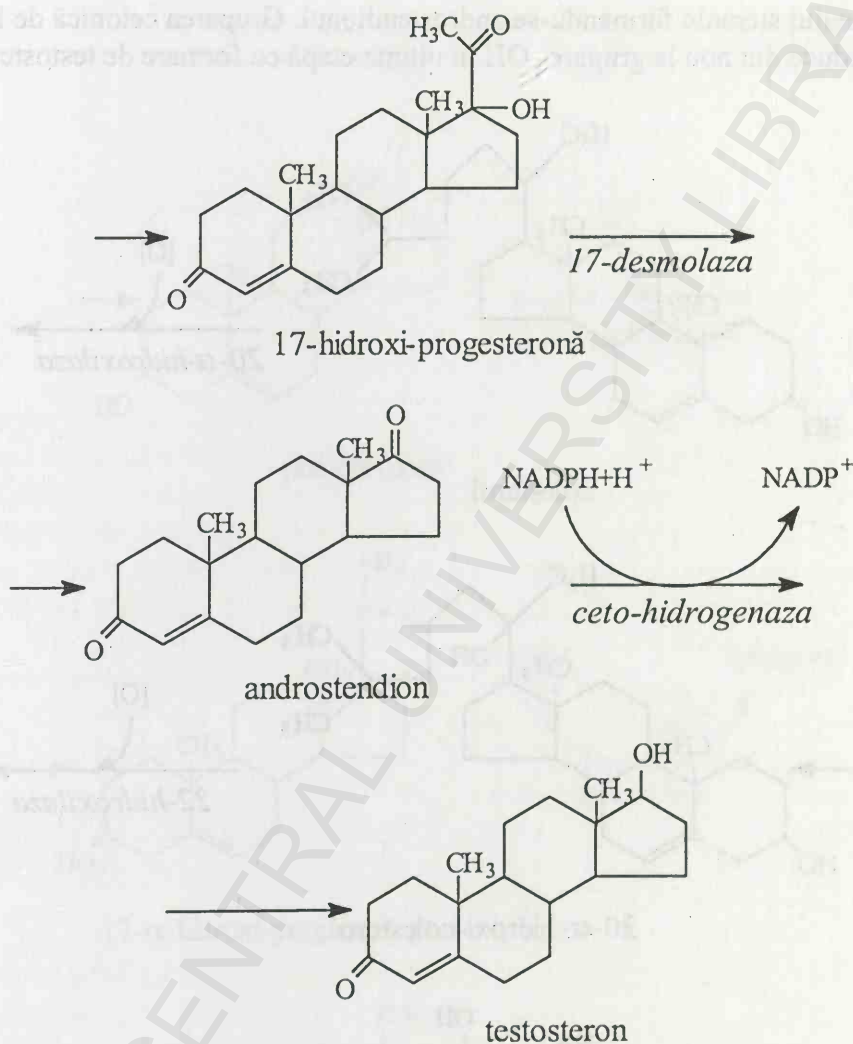
Calea principală de biosinteză se realizează în testicule și ovare și debutează prin acțiunea desmolazei care amputează catena laterală a colesterolului cu formare de pregnenolonă, această transformare realizându-se în trei etape:





Pregnenolona astfel formată este convertită în progesteronă sub acțiunea $3-\beta$ -dehidrogenazei care este o enzimă NAD^+ -dependentă. Asupra acesteia acționează, în continuare, $17\text{-}\alpha$ -hidroxilaza NADPH -dependentă, o enzimă activă în prezența oxigenului, când se formează 17 -hidroxi-progesterona. Acționează apoi 17 -desmolaza ce clivează doi atomi de carbon, dând naștere androstendionului care este redus de o *cetohidrogenază* la nivelul grupării $\text{C}=\text{O}$ din poziția 17 rezultând testosteron:



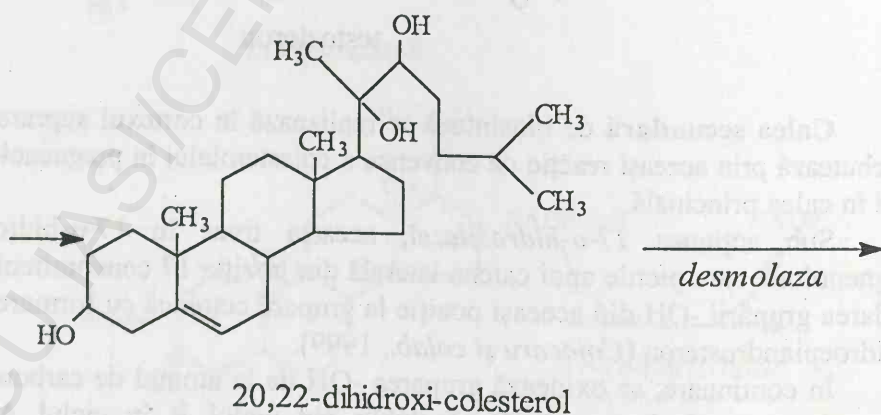
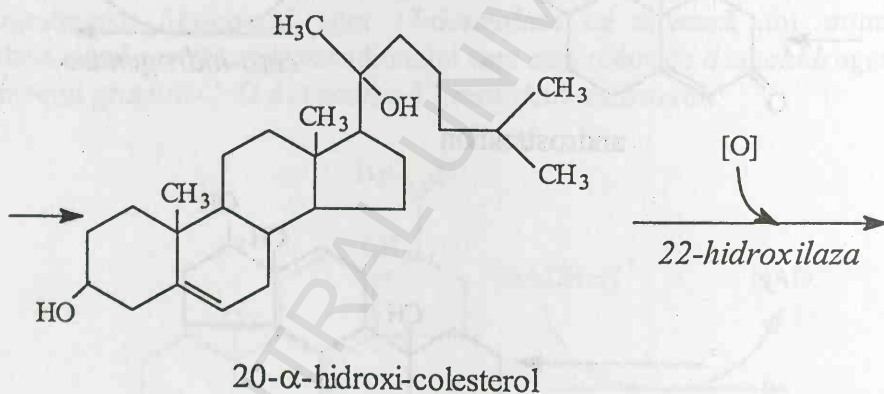
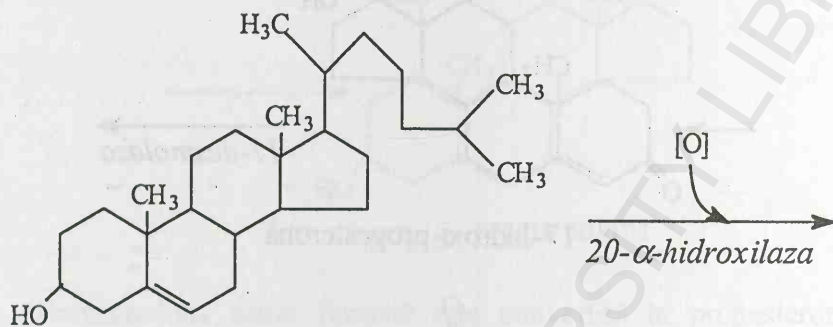


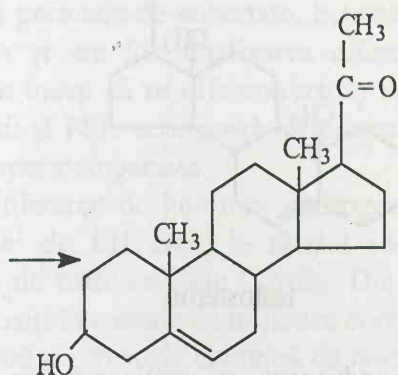
Calea secundară de biosinteză se realizează în cortexul suprarenal și debutează prin aceeași reacție de conversie a colesterolului în pregnenolonă ca și în calea principală.

Sub acțiunea *17- α -hidroxilazei*, aceasta trece în 17- α -hidroxipregnenolonă care pierde apoi catena laterală din poziția 17 concomitent cu oxidarea grupării -OH din aceeași poziție la grupare cetonă cu formare de dehidroepiandrosteron (Cojocar și colab., 1999).

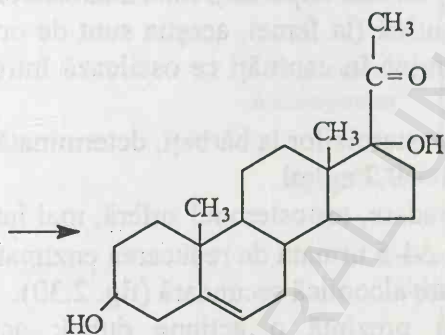
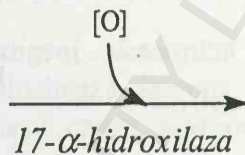
În continuare, se oxidează gruparea -OH de la atomul de carbon C₃ concomitent cu deplasarea legăturii duble din ciclul B în ciclul A al

nucleului steranic formându-se androstendionul. Gruparea cetonică de la C₁₇ se reduce din nou la grupare -OH în ultima etapă cu formare de testosteron:

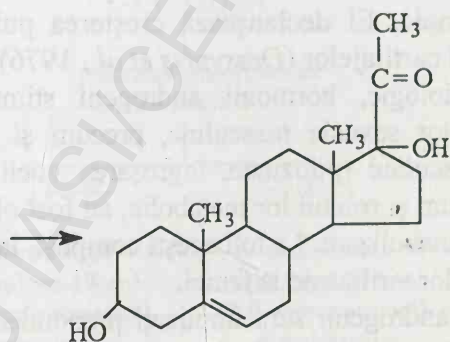
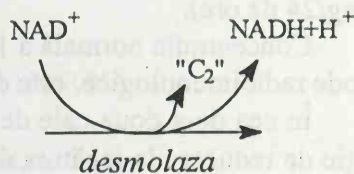




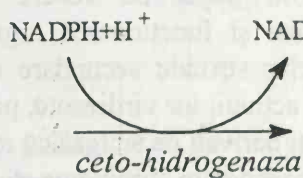
pregnenolonă

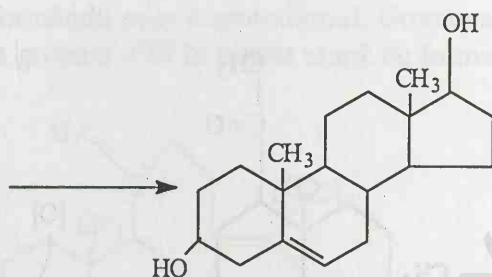


17- α -hidroxi-pregnenolonă



dihidroxi-epiandrosteron





testosteron

Catabolismul hormonilor androgeni se realizează pe două căi principale: calea 17-cetosteroizilor și, respectiv, calea androstanoizilor.

Prima cale metabolică are loc cu formarea unor compuși din categoria 17-cetosteroizilor (fig. 2.29), cei mai importanți fiind androsteronul și eticolanolona care se elimină prin urină (la femei, aceștia sunt de origine exclusiv corticosuprarenală și se elimină în cantități ce oscilează între 7 – 10 mg/24 de ore).

Concentrația normală a 17-cetosteroizilor la bărbați, determinată prin metode radioimunologice, este de 6,1 – 9,7 ng/ml.

În cea de-a doua cale de degradare, testosteronul suferă, mai întâi, o reacție de reducere la legătura dublă $\Delta 4-5$ urmată de reducerea enzimatică a grupei cetonice din poziția 3 la grupare alcoolică secundară (fig. 2.30).

Hormonii sexuali masculini prezintă o acțiune dublă: acțiune androgenă și, respectiv, metabolică.

Androgenii stimulează biosinteza proteică, mai ales la nivel muscular și osos, ceea ce determină o dezvoltare staturo-ponderală mai puternică la masculi decât la femele. Ei declanșează creșterea puberală explozivă prin stimularea activității cartilajelor (*Dessypris et al., 1976*).

Din punct de vedere fiziologic, hormonii androgeni stimulează dezvoltarea și funcționarea organelor sexuale masculine, precum și cea a caracterelor sexuale secundare masculine (pilozitate, îngroșarea vocii etc.). Datorită acțiunii lor virilizante, precum și rolului lor metabolic, au fost obținuți mai mulți derivați de sinteză cu rol anabolizant. La toți acești compuși, însă, nu s-a reușit pe deplin eliminarea efectelor virilizante la femei.

Prin acțiunile lor specifice, androgenii sunt implicați preponderent în patru fenomene biochimico-fiziologice cu repercusiuni asupra întregului organism: spermatogeneza, inhibarea acumulării de țesut adipos, creșterea masei musculare și influența asupra sistemului nervos central (*Singh et al., 2005*).

a. Spermatogeneza

În perioada de pubertate, biosinteza androgenilor, LH și FSH crește vertiginos și are loc finalizarea diferențierii tubilor seminiferi. Celulele germinale încep să se diferențieze în spermatozoizi, iar în perioada adultă androgenii și FSH acționează asupra celulelor Sertoli din testicule pentru a menține spermatogeneza.

Utilizarea de hormoni androgeni exogeni determină o inhibare a biosintezei de LH care, la rândul său, blochează secreția androgenilor endogeni de către celulele Leydig. Din această cauză, hormonii androgeni pot fi folosiți în calitate de mijloace contraceptive masculine.

Fără o producție continuă de hormoni androgeni de origine endogenă, însă, tubii seminiferi pot să degenereze, producând sterilitatea masculină.

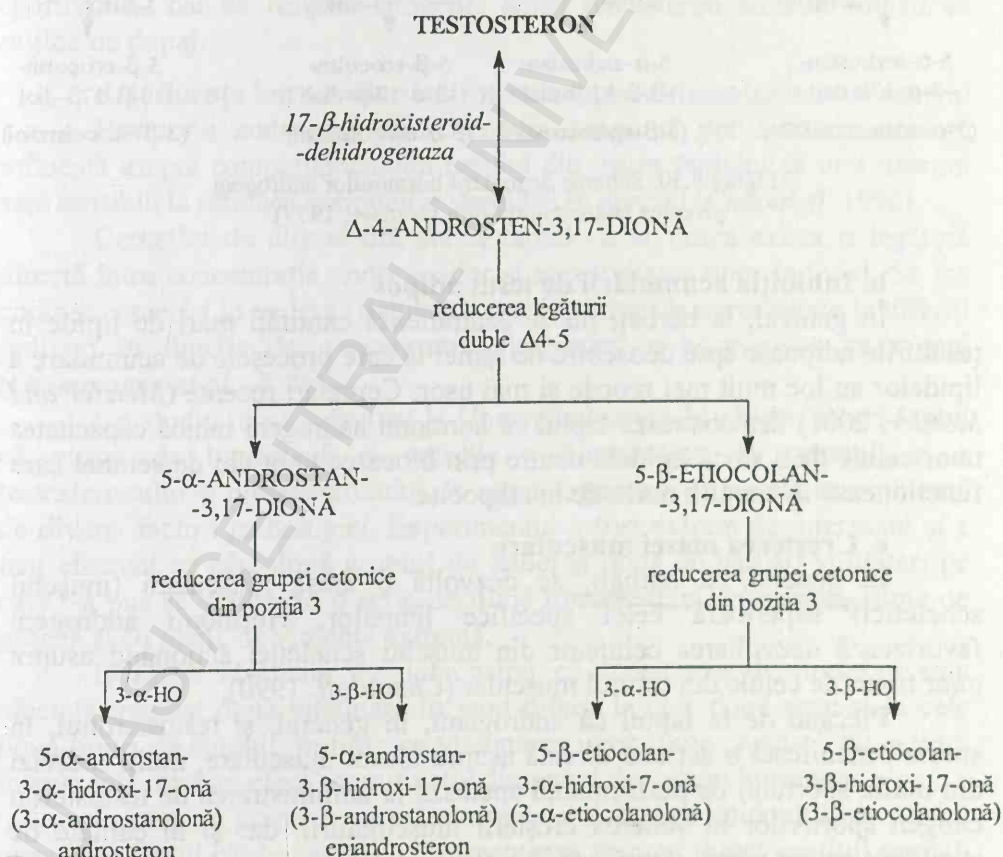


Figura 2.29. Schema degradării hormonilor androgeni pe calea 17-cetosteroizilor (Metzler, 1977).

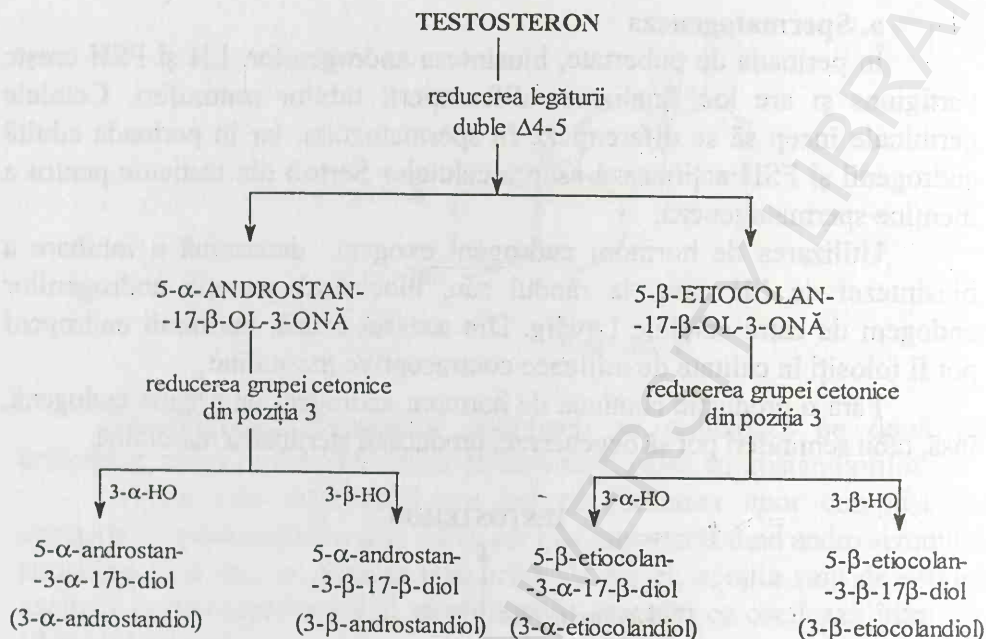


Figura 2.30. Schema degradării hormonilor androgeni pe calea androstan-dioliilor (Metzler, 1977).

b. Inhibiția acumulării de țesut adipos

În general, la bărbați nu se acumulează cantități mari de lipide în țesuturile adipoase spre deosebire de femei la care procesele de acumulare a lipidelor au loc mult mai repede și mai ușor. Cercetări recente (Metzler and Metzler, 2001) demonstrează faptul că hormonii androgeni inhibă capacitatea unor celule de a stoca lipidele neutre prin blocarea unor căi de semnal care funcționează în condiții normale în adipocite.

c. Creșterea masei musculare

În general, la bărbați, se dezvoltă o masă musculară (mușchii scheletici) superioară celei specifice femeilor. Hormonii androgeni favorizează dezvoltarea celulelor din mușchii scheletici acționând asupra unor tipuri de celule din țesutul muscular (Chaouloff, 1990).

Plecând de la faptul că androgenii, în general, și testosteronul, în special, manifestă o acțiune directă asupra masei musculare, mulți indivizi din mafia sportului de performanță apelează la administrarea de testosteron exogen sportivilor în vederea creșterii musculaturii, dar și în calitate de stimulent psihic menit să mărească motivarea sportivilor. Aceste preparate dopante determină creșterea masei musculare și a forței și, în același timp, a rezistenței la oboseală (Sinha-Hikim et al., 2004).

Dopajul cu testosteron exogen este însă extrem de periculos pentru sănătatea sportivului motiv pentru care, încă din 1984, forurile internaționale în domeniu au decis să interzică aceste practici.

Analizele anti-doping care se efectuează la sportivi, mai cu seamă în timpul marilor competiții internaționale, constau în detectarea testosteronului exogen prin evaluarea raportului cantitativ testosteron/epitestosteron care, la 90% dintre indivizi este foarte apropiat de 1/1.

În perioada 1984 – 2004 au fost tolerate valori ale acestui raport de până la 6/1 pentru ca în 2004 această limită maximă admisă să scadă la 4/1.

În cazul în care aceste teste sunt pozitive în ceea ce privește valoarea raportului amintit mai sus, se efectuează o analiză suplimentară (prin utilizarea metodei izotopilor radioactivi) pentru a determina dacă excesul de testosteron este de origine endogenă, deci sintetizat în mod natural în corpul sportivului, sau de origine exogenă, adică testosteron sintetic folosit ca mijloc de dopaj.

d. Influența hormonilor androgeni asupra sistemului nervos central

Hormonii androgeni din circulația sanguină pot avea o oarecare influență asupra comportamentului omului din cauza faptului că unii neuroni sunt sensibili la acțiunea hormonilor steroidici în general (*Chaouloff, 1990*).

Cercetări de ultimă oră atestă faptul că ar putea exista o legătură directă între concentrația androgenilor și agresivitatea unor indivizi. Se fac chiar și cercetări în vederea depistării predispoziției la agresivitate la diferiți indivizi în funcție de concentrația plasmatică a hormonilor androgeni (*Giammanco et al., 2005*).

Un studiu recent efectuat la Universitatea din Michigan atestă faptul că viteza de biosinteză și secreție a hormonilor, în general, și a testosteronului și progesteronului, în special, poate fi stimulată sau inhibată de diverși factori psihologici. Experimentul a fost extrem de interesant și a fost efectuat pe câte două grupuri de femei și două de bărbați voluntari pe care i-a pus să vizioneze o serie de filme romantice și, în paralel, filme de groază și cu scene de violență extremă.

Dozările efectuate au demonstrat că biosinteza de hormoni este afectată imediat după vizionare în mod diferit la cele două sexe și la cele două tipuri de stimuli, în timp ce vizionarea unor filme „neutre” nu a avut, în aparență, nici un efect semnificativ din punct de vedere hormonal.

În ceea ce privește rolul testosteronului asupra libidoului, se știe cu exactitate faptul că, la bărbați, el influențează în mod direct apetitul sexual, în timp ce la femei acțiunea sa din acest punct de vedere este de mai mică amploare.

Reglarea biosintezei și secreției de hormoni sexuali masculini de către testicule se află sub control hipofizar. În timp ce FSH stimulează gametogeneza, hormonul luteinizant – LH (sau ICSH – *interstitial cells stimulating hormone*) stimulează celulele Leydig în producția de androgeni. Există o reglare a androgenilor prin mecanism *feed-back* oarecum paradoxală, deoarece castrarea stimulează mai mult secreția de FSH decât cea de LH. Hormonii androgeni inhibă secreția de LH-RH de către hipotalamus, de asemenea, prin *feed back*, precum și răspunsul hormonului luteinizant față de liberina sa (LH-RH).

Inhibarea secreției hormonului foliculostimulant (FSH) se realizează prin intermediul unei **ciberine (inhibine)** de origine testiculară, secretată de către celulele Sertoli. În afară de acțiunea sa principală, inhibina acționează și la nivelul testiculului unde diminuează rata de multiplicare a spermatozoizilor.

Transportul androgenilor pe cale sanguină se face sub formă legată de trei proteine: albumina serică, **CBG** (*corticosteroid binding globulin*) și, respectiv, **SBG** (*sex hormone binding globulin*) iar, la bărbați, concentrația plasmatică normală se situează în jurul valorii de 5 ng/ml. Acțiunea testosteronului asupra celulelor țintă are loc numai după legarea sa de o proteină nucleară specifică numită „*receptor de androgeni*”.

Acest receptor are o afinitate mai mare față de derivatul redus al testosteronului – *dihidro-testosteron (DHT)* care se formează în cursul catabolismului intracelular al hormonului sub acțiunea unei *5- α -reductaze* specifice. De fapt, această formă redusă (DHT) manifestă acțiunea virilizantă propriu-zisă.

La *foetus*, *5- α -reductaza* nu apare decât foarte târziu, iar diferențierea masculină (menținerea canalelor Wolf) reprezintă rezultatul acțiunii testosteronului. Dihidrotestosteronul legat de receptorul său acționează asupra materialului genetic nuclear printr-un mecanism încă incomplet elucidat (fig. 2.31).

Studiul hormonilor sexuali masculini prezintă o importanță practică deosebită și pentru obținerea elementelor contraceptive hormonale (Maiworm, 1990). Se știe că spermatogeneza necesită prezența unor concentrații plasmatice normale de FSH și LH. Inhibiția acestor hormoni, fie direct, fie prin intermediul blocării prolactoliberinei (LH – RH) determină o reducere drastică a producerii de spermă.

Acest lucru determină o diminuare a secreției de testosteron și, indirect, a libidoului și potenței sexuale. De aceea, testosteronul sau derivații săi sintetici pot fi utilizați în vederea diminuării, prin *feed back*, a secreției de hormoni hipofizari, fără a afecta libidoul.

Într-o anumită doză, testosteronul sau derivații săi suprimă spermatogeneza și compensează carența în testosteron endogen provocată prin retroinhibiție.

Acest mecanism stă la baza acțiunii anticoncepționalelor pentru bărbați, cel mai adesea utilizându-se esterii testosteronului administrați intramuscular, testosteronul implantat subcutanat în microcapsule de silicon, asociații testosteron - progestageni etc.

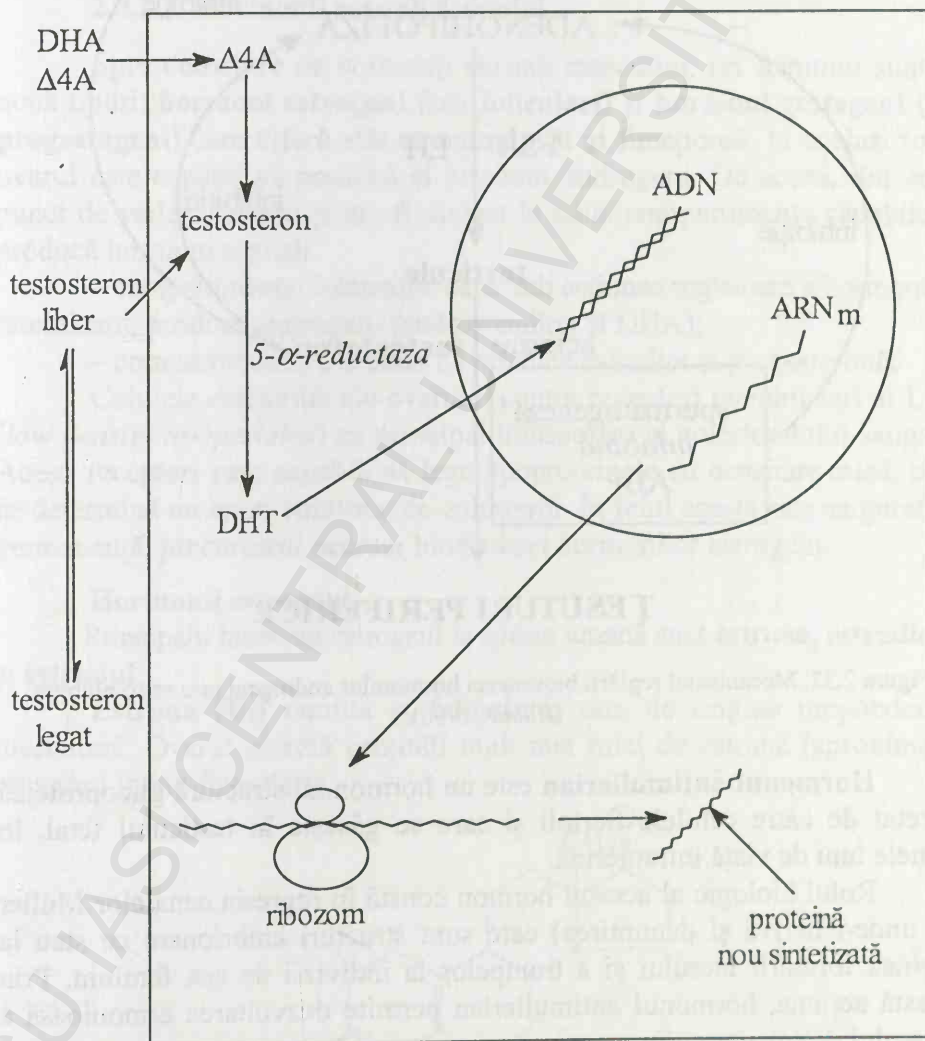


Figura 2.31. Reprezentarea schematică a modului de acțiune a testosteronului (Idelman, 1990) (DHA – dehidroepiandrosteron; $\Delta 4A$ – androstendion; DHT – dihidrotestosteron).

Există și un mecanism de tip *feed-back* de reglare a biosintezei hormonilor androgeni în sensul că testosteronul sintetizat în testicule își reglează propria sinteză prin retroinhibiție (fig. 2.32).

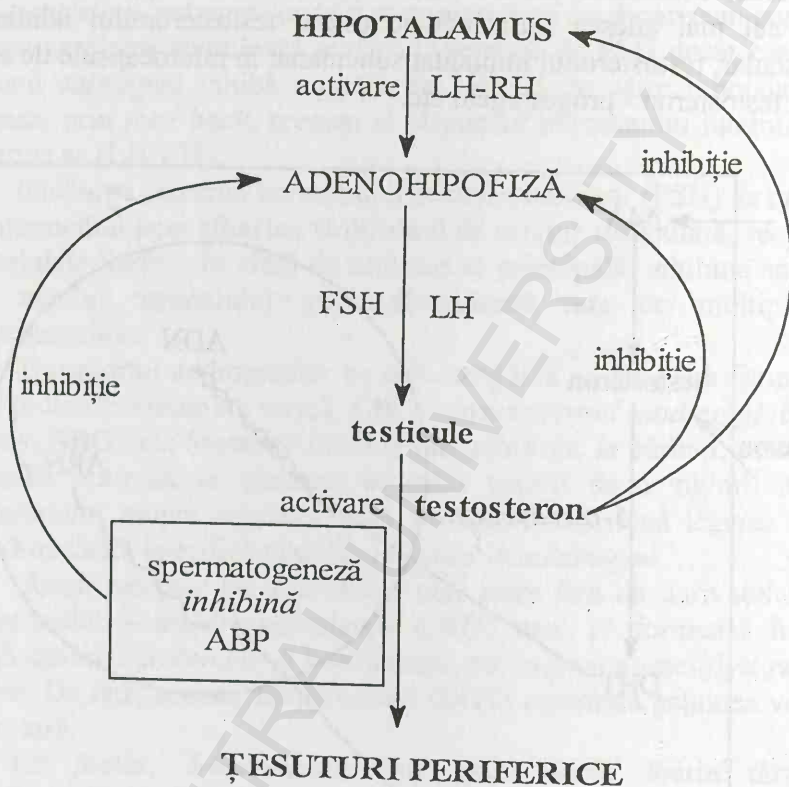


Figura 2.32. Mecanismul reglării biosintezei hormonilor androgeni prin retroinhibiție (Hulme, 1990).

Hormonul antimullerian este un hormon cu structură glicoproteică secretat de către celulele Sertoli și care se găsește în testiculul fetal, în primele luni de viață intrauterină.

Rolul biologic al acestui hormon constă în regresia canalelor Müller (de unde-i derivă și denumirea) care sunt structuri embrionare ce stau la originea formării uterului și a trompelor la indivizii de sex feminin. Prin această acțiune, hormonul antimullerian permite dezvoltarea armonioasă a fetus-ului de sex masculin.

Inhibina este un hormon cu structură glicoproteică sintetizată în celulele Sertoli la masculi și, respectiv, celulele *pars granulosa* la femele.

După cum arată și numele, acest hormon are rolul de a inhiba, în mod specific, biosinteza subunităților β ale hormonului foliculo-stimulant (FSH) la nivelul adenohipofizei și eliberarea acestora indusă de către gonadoliberină (Gn-RH).

Mai este implicată în reglarea ciclului menstrual. Se pare că, în realitate, se sintetizează două inhibine: inhibina A secretată în faza a doua a ciclului menstrual și, respectiv, inhibina B sintetizată în prima fază a ciclului.

2.3.2.2. Hormonii sexuali feminini

Spre deosebire de hormonii sexuali masculini, cei feminini sunt de două tipuri: **hormoni estrogeni** (sau **foliculari**) și **hormoni gestageni** (sau **progestageni**) care diferă atât structural, cât și funcțional. În același timp, ovarul este capabil să producă și hormoni androgeni. De aceea, din acest punct de vedere, ovarul poate fi divizat în două compartimente capabile să producă hormoni sexuali:

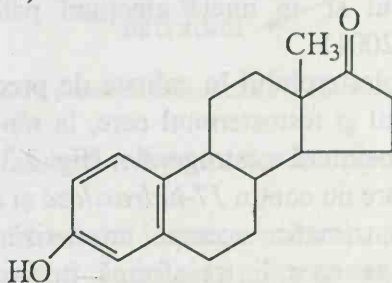
- compartimentul interstițial care, sub acțiunea reglatoare a hormonului luteinizant, produce androgeni (androstendion și DHA);
- compartimentul folicular ce produce estradiol și progesteronă.

Celulele endocrine ale ovarului conțin receptori membranari ai LDL (*low density lipoproteins*) ca principal transportor al colesterolului sanguin. Acești receptori sunt capabili să lege lipoproteinele cu densitate mică, ceea ce determină un aport continuu de colesterol. În felul acesta este asigurat, în permanență, precursorul necesar biosintezei hormonilor estrogeni.

Hormonii estrogeni

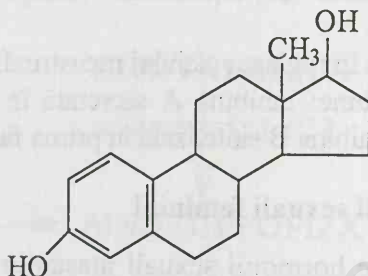
Principalii hormoni estrogeni la specia umană sunt **estrona**, **estradiolul** și **estriolul**.

Estrona (E_1) numită și **foliculină**, este de origine preponderent placentară. Ovarul secretă cantități mult mai mici de estronă (aproximativ 30 ng/ml lichid folicular):



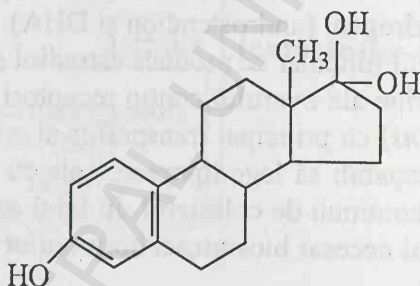
estronă

Estradiolul (E_2) sau **dihidroxifoliculina** este principalul hormon estrogen.



estradiol

Estriolul (E_3) sau **trihidroxifoliculina** este absentă în sânge și este detectată în lichidul folicular în faza luteală a ciclului în concentrație de aproximativ 2,4 $\mu\text{g/g}$ lichid.



estriol

Hormonii estrogeni au mai fost identificați și în glandele sexuale și urina masculilor. Deși originea estrogenilor este preponderent foliculară, acești hormoni mai sunt secretați de celulele interstițiale ale ovarului, corpul galben, placentă, testicul și, în unele afecțiuni patologice, de cortexul suprarenal (Fang et al., 2001).

Prin utilizarea colesterolului în calitate de precursor se sintetizează mai întâi androstendionul și testosteronul care, la rândul lor, vor constitui precursorii în căile de biosinteză a estrogenilor (fig. 2.33).

Celulele glandulare nu conțin *17-hidroxilază* și *desmolază*, în schimb posedă echipamentul enzimatic necesar aromatizării nucleului A din structura androgenilor pe care îi transformă în hormoni estrogeni sub acțiunea reglatoare a hormonului foliculostimulant (FSH).

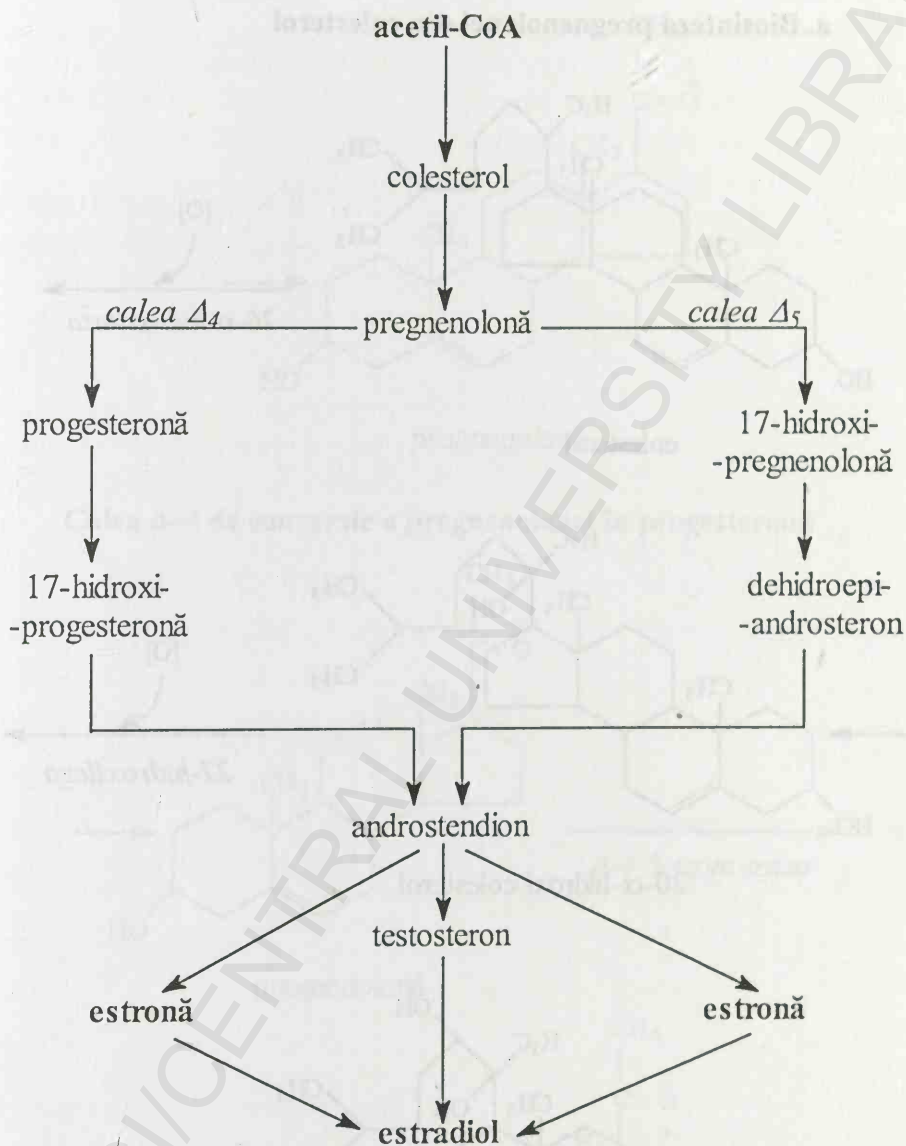
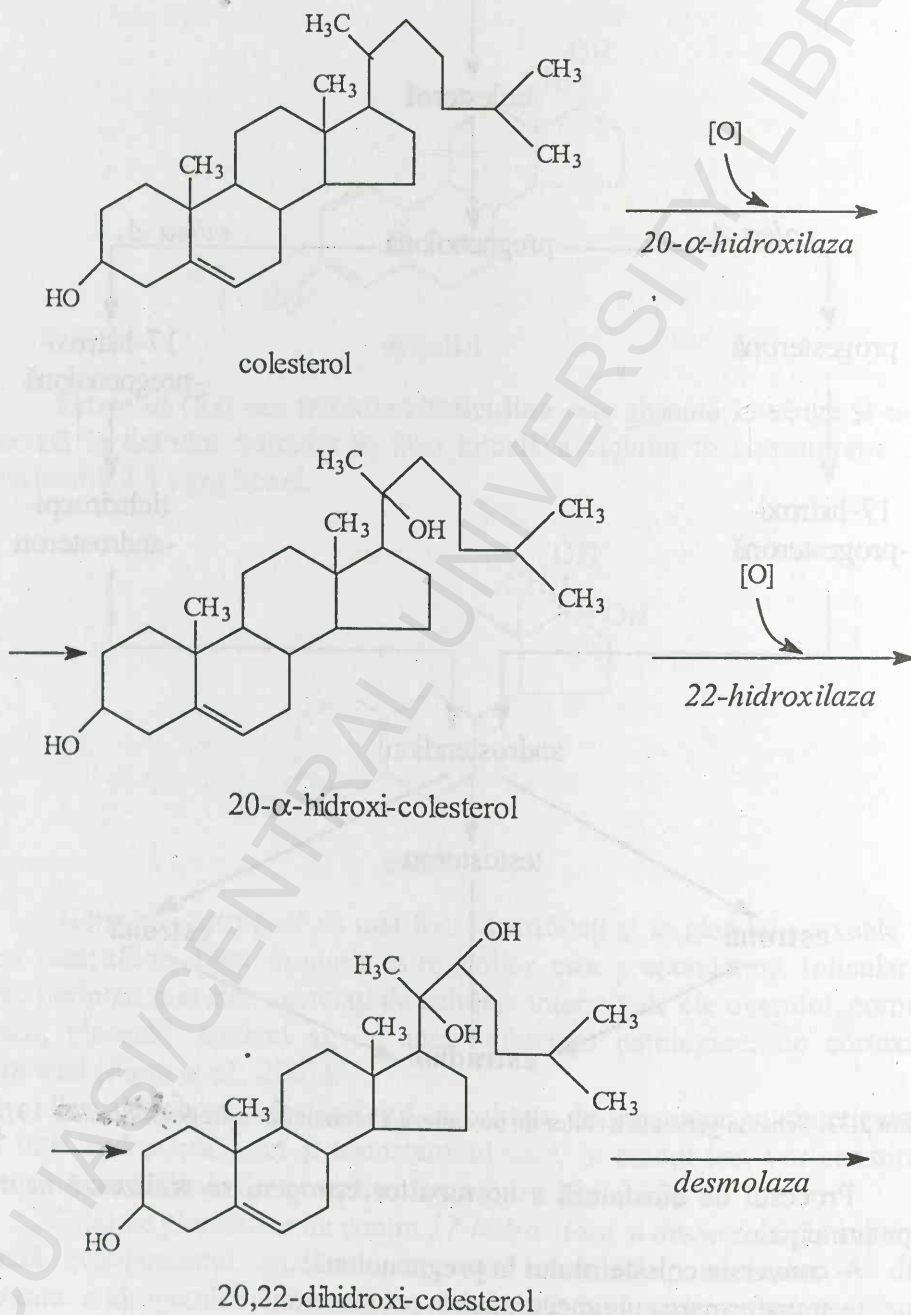


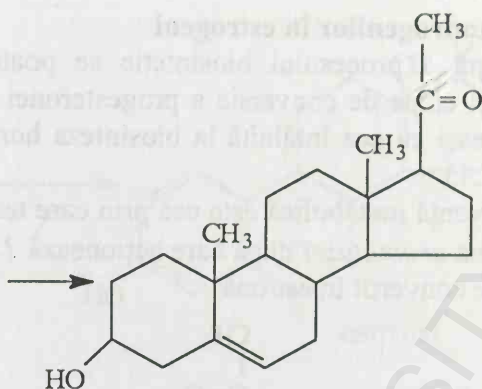
Figura 2.33. Schema generală a căilor de biosinteză a hormonilor estrogeni (Baulieu, 1978).

Procesul de biosinteză a hormonilor estrogeni se realizează în trei etape principale:

- conversia colesterolului în pregnenolonă;
- transformarea pregnenolonei în progesteronă;
- conversia androgenilor în estrogeni.

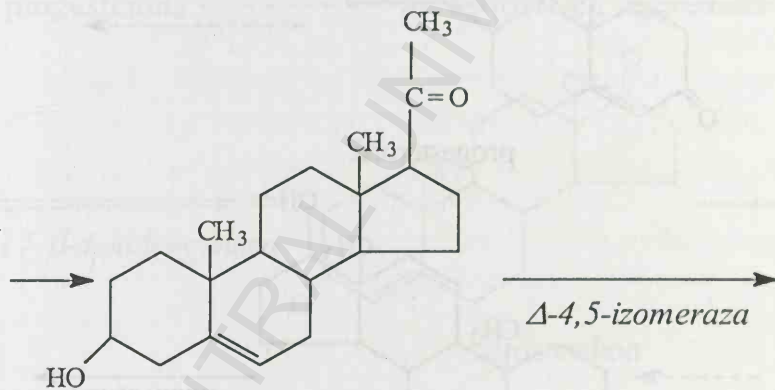
a. Biosinteza pregnenolonei din colesterol



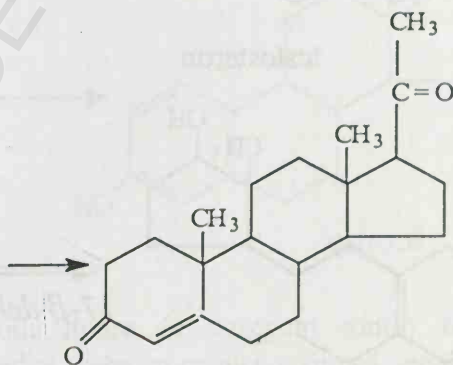


pregnenolonă

Calca Δ -4 de conversie a pregnenolonei în progesteronă



pregnenolonă

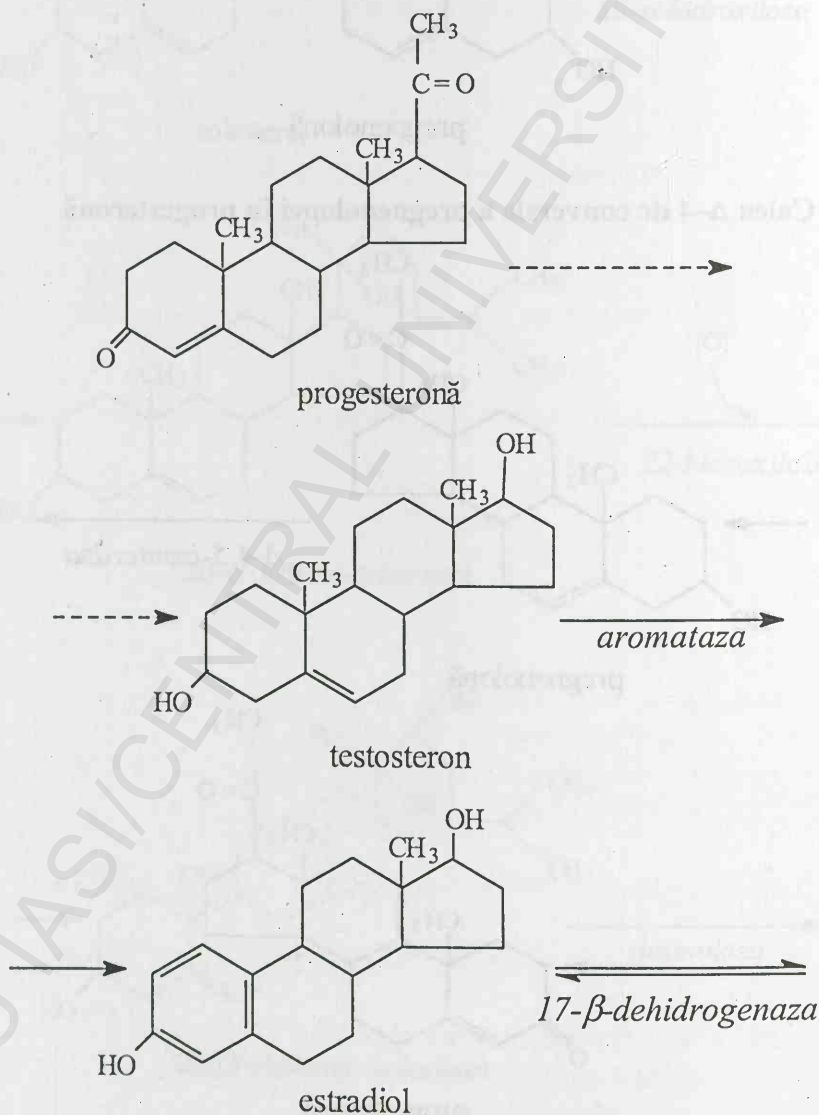


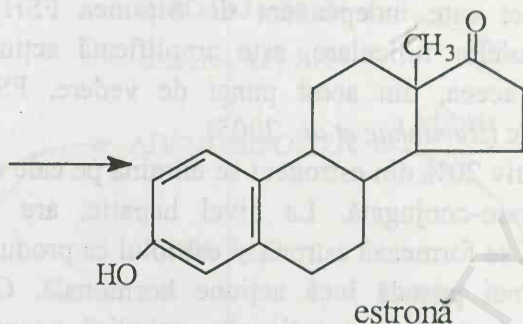
progesteronă

Conversia androgenilor în estrogeni

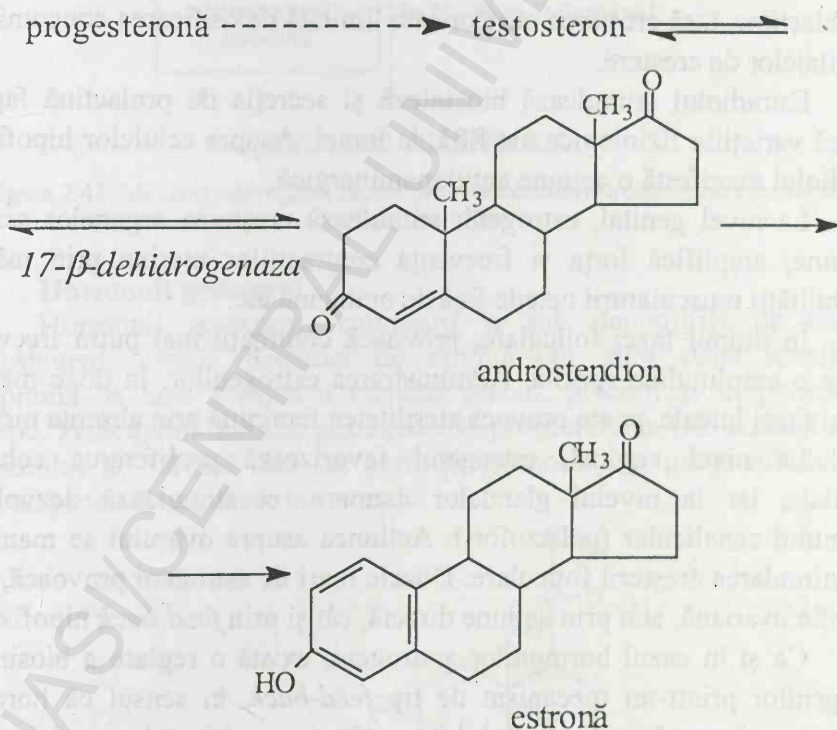
Această etapă a procesului biosintetic se poate realiza în două moduri diferite, deși etapa de conversie a progesteronei în testosteron este comună și este aceeași cu cea întâlnită la biosinteza hormonilor androgeni (vezi capitolul 2.3.2.1).

O primă secvență metabolică este cea prin care testosteronul trece în estradiol sub acțiunea *aromatazei* după care acționează *17- β -dehidrogenaza* când estradiolul este convertit în estronă:





În cea de a doua cale, acționează mai întâi *17- β -dehidrogenaza* când testosteronul (sintetizat din progesteronă) este convertit în androstendion asupra căruia acționează *aromataza* transformându-l în estronă:



Celulele producătoare de estrogeni conțin, totodată, și receptori specifici pentru estradiol, ceea ce explică acțiunea „mitotică” care antrenează diviziunea celulară.

Acest efect este independent de acțiunea FSH dar, favorizând multiplicarea celulelor foliculare, este amplificată acțiunea FSH asupra receptorilor. De aceea, din acest punct de vedere, FSH și estradiolul acționează sinergic (Revankar et al., 2005).

Aproximativ 20% din estrogeni se elimină pe cale urinară sub formă sulfo- și glucurono-conjugată. La nivel hepatic, are loc catabolismul estradiolului când se formează estrona și estriolul ca produși intermediari de degradare care mai posedă încă acțiune hormonală. Ca și androgenii, hormonii estrogeni prezintă o acțiune metabolică generală și o acțiune asupra tractului genital femel.

În privința rolului metabolic, estrogenii favorizează, în primul rând, retenția apei și a sodiului, ceea ce determină deseori apariția edemelor premenstruale. Ei mai facilitează fixarea calciului și intensifică activitatea osteoblaștilor, însă creșterea oaselor este limitată de osificarea concomitentă a cartilajelor de creștere.

Estradiolul stimulează biosinteza și secreția de prolactină fapt ce explică variațiile fiziologice ale PRL la femei. Asupra celulelor hipofizare, estradiolul manifestă o acțiune antidopaminergică.

La nivel genital, estrogenii stimulează creșterea organelor sexuale feminine, amplifică forța și frecvența contracțiilor uterine prin mărirea sensibilității musculaturii netede față de ocitocină etc.

În timpul fazei foliculare, provoacă contracții mai puțin frecvente, dar de o amplitudine sporită. Administrarea estrogenilor, în doze mari, în timpul fazei luteale, poate provoca sterilitatea feminină prin absența nidației.

La nivel vaginal, estrogenii favorizează proliferarea celulelor epiteliale, iar la nivelul glandelor mamare, ei stimulează dezvoltarea sistemului canalicular (galactofori). Acțiunea asupra ovarului se manifestă prin stimularea creșterii foliculare. Dozele mari de estrogeni provoacă, însă, o atrofie ovariană, atât prin acțiune directă, cât și prin *feed-back* hipofizar.

Ca și în cazul hormonilor androgeni, există o reglare a biosintezei estrogenilor printr-un mecanism de tip *feed-back*, în sensul că hormonii ovarieni acționează prin retroinhibiție, atât asupra hipotalamusului, cât și asupra adenohipofizei (fig. 2.34). În ambele situații, deci, biosinteza hormonilor sexuali este stimulată de liberinele corespunzătoare din hipotalamus și este inhibată atât de statinele corespunzătoare, cât și prin mecanism de tip *feed-back* de hormonii testiculari, respectiv ovarieni.

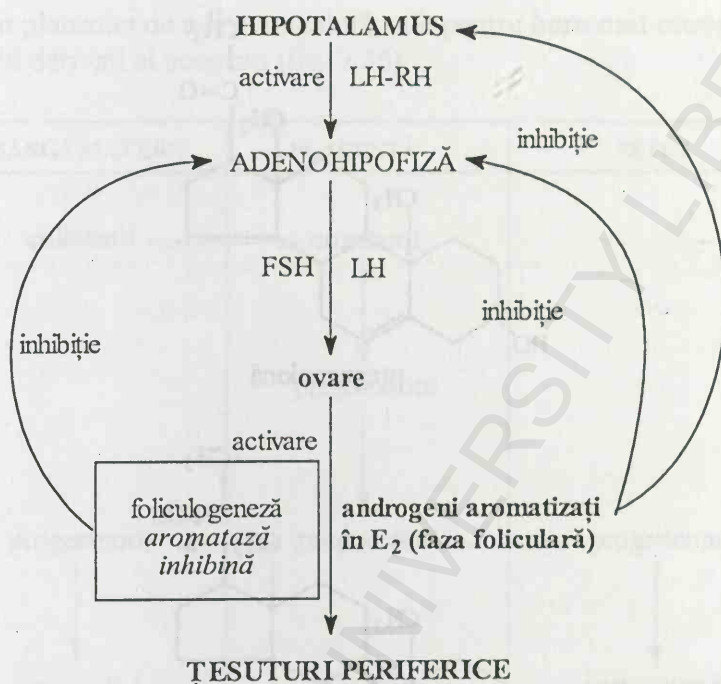
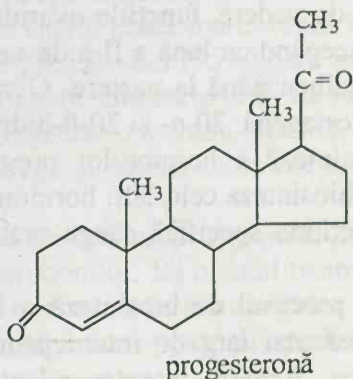
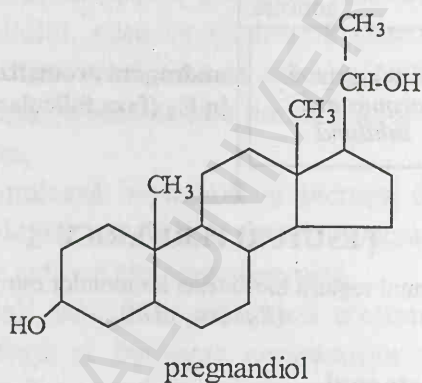
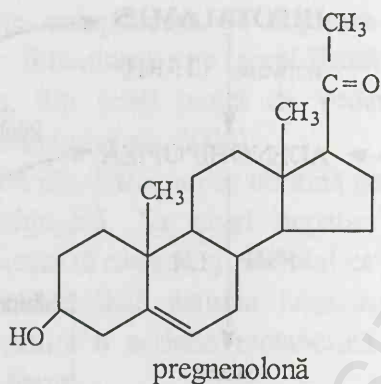


Figura 2.43. Mecanismul reglării biosintezei hormonilor estrogени prin retroinhibiție (Baulieu, 1978).

Hormonii gestageni

Hormonii gestageni, cunoscuți și sub denumirile de hormoni progestageni, luteali, hormoni de sarcină etc. sunt strict specifici și predomină în faza a doua a ciclului sexual, precum și în perioada de gestație. Principalul hormon gestagen este progesterona. Din aceeași clasă a hormonilor de sarcină mai fac parte pregnenolona și pregnandiolul care, însă, nu prezintă activitate hormonală:





Hormonii progestageni sunt sintetizați de ovare, dar și de către corticosuprarenală și placentă. Progesterona este principalul hormon gestagen dar, în același timp, ea reprezintă precursorul tuturor hormonilor steroidici. În corpul galben, procesul biosintetic este stopat la acest stadiu (*cholesterol* → *progesteronă*).

Din acest punct de vedere, funcțiile ovarului sunt înlocuite cu cele exercitate de placentă începând cu luna a II-a de sarcină, ceea ce determină o involuție a corpului galben până la naștere. Ovarul mai sintetizează doi hormoni cu acțiune progestagenă: 20- α - și 20- β -hidroxi-proges-teronele.

Procesul de biosinteză a hormonilor progestageni este mult mai complex comparativ cu biosinteza celorlalți hormoni cu structură steroidică, fiind vorba de o interacțiune specifică sânge matern – placentă – feto (fig. 2.35).

În mod similar, procesul de biosinteză a hormonilor estrogeni se încadrează într-un proces mai larg de interdependență dintre organismul matern, placentă și feto. Această interdependență este posibilă datorită

capacității placentei de a fi permeabilă, atât pentru hormonii estrogeni, cât și pentru unii derivați ai acestora (fig. 2.36).

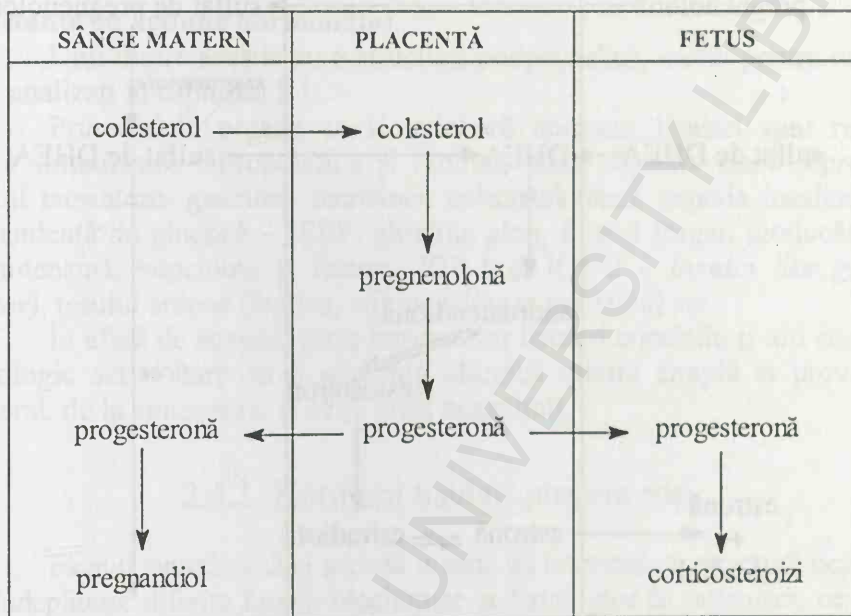
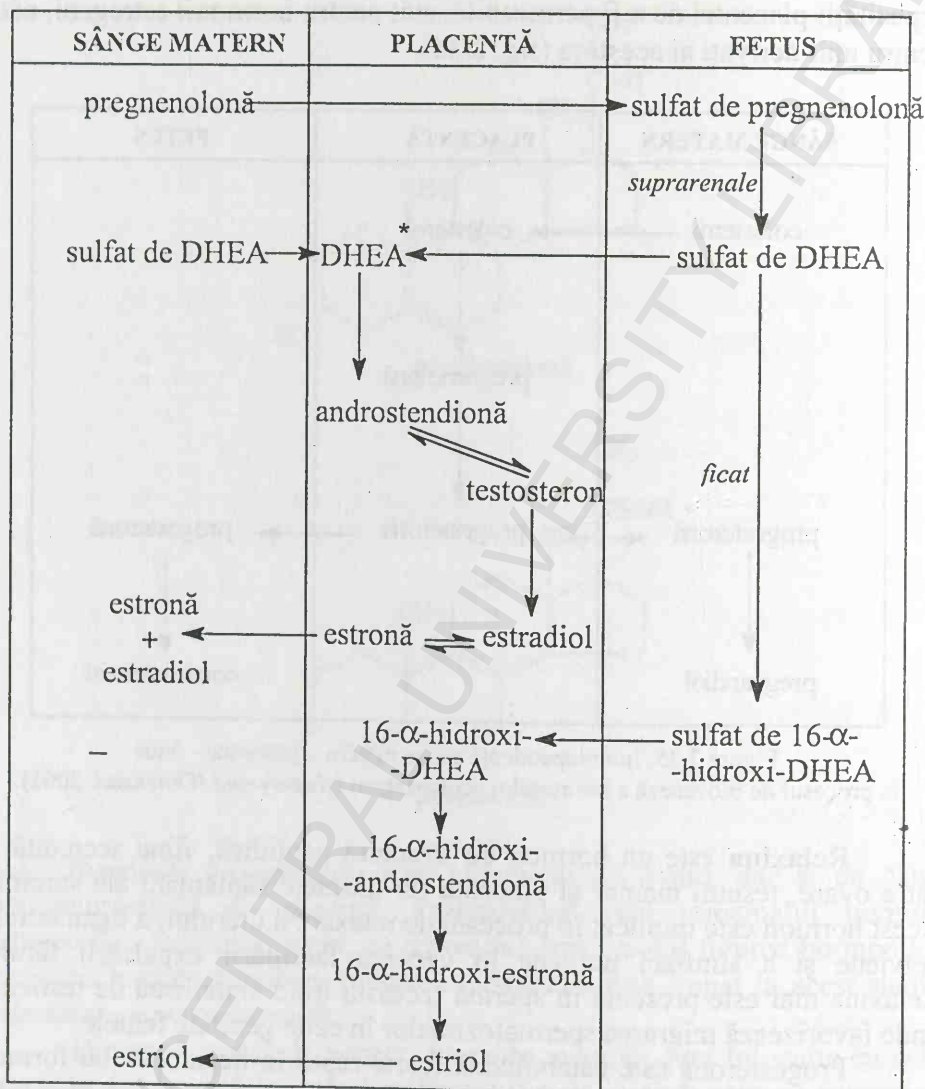


Figura 2.35. Interdependența sânge matern – placentă – fetus în procesul de biosinteză a hormonilor progestageni (Nussey and Whitehead, 2001).

Relaxina este un hormon cu structură peptidică, fiind secretată de către ovare, țesutul mamar și placentă (în ultimele săptămâni ale sarcinii). Acest hormon este implicat în procesul de relaxare a uterului, a ligamentelor pelviene și a simfizei pubiene în vederea facilitării expulzării fătului. Relaxina mai este prezentă în spermă (aceasta fiind sintetizată de testicule) unde favorizează migrarea spermatozoizilor în căile genitale femele.

Progesterona este catabolizată foarte rapid în hepatocite cu formare de pregnenolonă (5%) și pregnandiol (95%) care se elimină apoi prin urină sub formă glucuronoconjugată. Organele țintă ale hormonilor gestageni sunt ovarele și uterul. Ei pregătesc mucoasa uterină pentru fixarea ovulului (nidație), favorizează nidația și inhibă contractibilitatea uterului (provocată de ocitocină și estrogeni).

Acțiunea progestagenilor asupra glandei mamare se realizează în sinergism cu acțiunea estrogenilor. La nivelul trompelor uterine, excesul de progesteronă determină o diminuare a tranzitului în timp ce un deficit îl accelerează. În aceste două cazuri, poate să apară sterilitatea feminină prin dereglarea nidației.



* DHEA – dihidroepiandrosteronă

Figura 2.36. Interdependența sânge matern – placentă – fetus în procesul de biosinteză a hormonilor estrogeni (Nussey and Whitehead, 2001).

2.4. Hormonii tisulari

În afara glandelor endocrine, unele țesuturi din organismele animale sunt capabile să sintetizeze o serie de substanțe cu acțiune hormonală.

Deoarece funcțiile fiziologice principale ale acestor țesuturi nu sunt glandulare, hormonii respectivi sunt catalogați într-o grupă specială cunoscută sub denumirea generică de **hormoni tisulari** (numiți uneori și **substanțe cu acțiune hormonală**).

Unii dintre aceștia au o structură polipeptidică, motiv pentru care au fost analizați în capitolul 2.1.

Principalele organe ce sintetizează hormoni tisulari sunt rinichii (care sintetizează eritropoietina și renina), tubul digestiv (care reprezintă sediul biosintezei gastrinei, secretinei, colecistokininei, peptida insulinotropă dependentă de glucoză – JEEP, ghrelina etc.), ficatul (organ producător de angiotensină, hepcidină și factorii IGF-1 și IGF-2 – *Insulin like growth factor*), țesutul adipos (leptina, adiponectina și rezistina) etc.

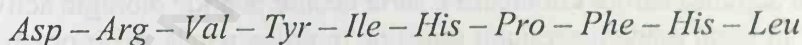
În afară de aceștia, clasa hormonilor tisulari cuprinde și alți compuși fiziologic activi care au o structură chimică relativ simplă și provin, în general, de la aminoacizi și acizi grași nesaturați.

2.4.1. Hormoni tisulari propriu-ziși

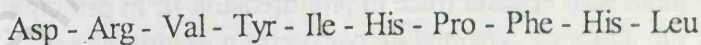
Ficatul sintetizează și secretă o serie de hormoni cu structură peptidică ce îndeplinesc diferite funcții biochimice și fiziologice în organism, cei mai cunoscuți fiind angiotensinele, hepcidina și factorii IGF-1 și IGF-2.

Angiotensinogenul, angiotensina I și angiotensina II sunt peptide implicate în menținerea volumului și a tensiunii arteriale, jucând un rol important în sistemul renină – angiotensină – aldosteron.

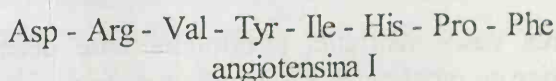
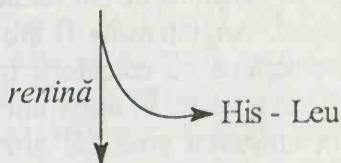
Angiotensinogenul reprezintă precursorul angiotensinelor, fiind o decapeptidă sintetizată în hepatocite cu următoarea formulă chimică:



Sub acțiunea *reninei* (numită și *angiotensinogenază*) are loc clivarea dipeptidei *His – Leu* de la capătul C-terminal al angiotensinogenului cu formare de angiotensină I (Nguyen, 2002):



angiotensinogen



Angiotensina I are un rol biologic mai puțin semnificativ, singura sa funcție importantă fiind cea de precursor al angiotensinei II.

Angiotensina II se formează din angiotensina I prin maturarea acesteia sub acțiunea așa-numitei „enzime de conversie”. Principala funcție biologică constă în menținerea presiunii arteriale, funcție pe care o exercită prin următoarele trei efecte:

- efectul vasoconstrictor ce conduce la creșterea presiunii arteriale;
- crearea senzației de sete prin acțiune directă asupra sistemului nervos central;
- stimularea cortexului suprarenal în secreția de aldosteron.

Datorită acestor efecte, utilizarea în practica medicală a unor medicamente antihipertensive se bazează pe acțiunea acestora asupra angiotensinei II. Mai exact, aceste medicamente sunt inhibitori ai enzimei de conversie sau antagoniști ai receptorilor angiotensinei II.

Îndeplinirea funcțiilor biologice ale angiotensinei II mai este datorată sistemului **renină – angiotensină – aldosteron (RAA)**, o cascadă reglatoare mixtă endocrino-enzimatică ce funcționează la nivel renal în vederea reglării homeostaziei hidro-sodice, adică a realizării echilibrului $\text{Na}^+ \leftrightarrow \text{apă}$. Această cascadă reglatoare are rolul de a regla secreția de aldosteron, hormon ce controlează reabsorbția sodiului la nivel renal.

Funcționarea acestui sistem reglator este relativ simplă. Angiotensinogenul este o proteină inactivă hormonal de origine hepatică care este secretată în sânge și care reprezintă precursorul unor peptide active, fiind singurul substrat al reninei. În același timp, angiotensinogenul mai poate fi degradat parțial și de alte proteaze cum ar fi catepsina G, kalicreinele tisulare etc. sub acțiunea cărora eliberează o serie de alte peptide biologic active.

În cazul scăderii presiunii sanguine în artera renală, acest organ începe să secrete renină, o enzimă considerată deseori ca fiind o substanță cu rol hormonal. Renina astfel sintetizată acționează asupra angiotensinogenului (sintetizat în ficat) pe care îl convertește în angiotensina I inactivă.

La rândul său, aceasta trece în angiotensina II, în principal la nivelul plămânului sub acțiunea „enzimei de conversie a angiotensinei” – ACE care este o *carboxipeptidază*. Angiotensina II are proprietăți hormonale, având capacitatea de a interacționa cu receptorii transmembranari specifici AT_1 și/sau AT_2 cu roluri antagoniste. În urma interacțiunii cu receptorii de tipul AT_1 , este favorizată creșterea presiunii arteriale (fig. 2.37) prin diferite mecanisme:

- stimularea vasoconstricției arteriolelor care determină creșterea rezistenței periferice cu menținerea filtrării glomerulare;

- stimularea secreției de aldosteron de către suprarenale, acțiunea acestuia determinând creșterea vitezei de reabsorbție a sodiului la nivel renal;
- stimularea secreției de vasopresină (hormonul antidiuretic) care limitează eliminarea apei pe cale renală;
- stimularea senzației de sete.

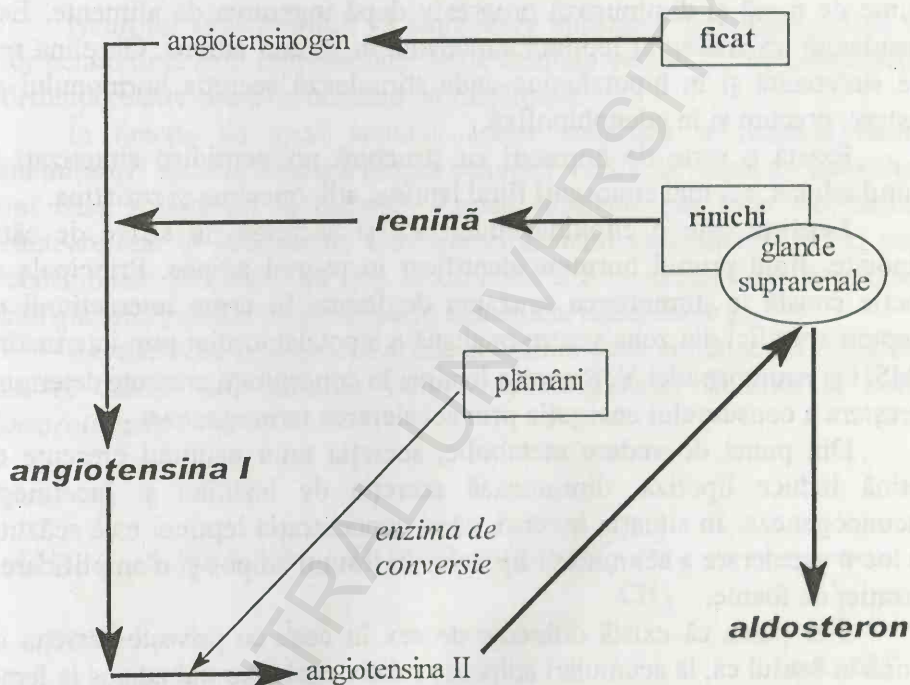


Figura 2.37. Reprezentarea schematică a cascadei reglatoare renină – angiotensină – aldosteron (Nguyen et al., 2002).

Hepcidina este un hormon cu structură polipeptidică sintetizat și secretat de către ficat. Principala sa funcție constă în reglarea homeostaziei fierului în organism prin acțiunea la nivelul absorbției intestinale și a stocării sale hepatice. Insuficiența secreției de hepcidină este legată de o maladie genetică cunoscută sub numele de hemocromatoză.

Tot în ficat se sintetizează doi factori denumiți IFG-1 și IFG-2 (*insulin-like growth factor*) al căror rol biologic nu este încă pe deplin elucidat. În afară de gastrină, secretină și colecistokinină (vezi capitolul 2.1.6), în tubul digestiv se mai sintetizează ghrelina și peptida insulinotropă.

Ghrelina este o peptidă sintetizată în stomac al cărei rol constă în stimularea secreției hormonului de creștere și în stimularea acumulării lipidelor în țesuturile adipoase. Ea reprezintă primul ligand natural ce a fost identificat față de un receptor, clonat anterior, al celulelor ce secretă hormonul de creștere prezent în hipofiză și hipotalamus.

Ghrelina este sintetizată, preponderent, de celulele P/D₁ din stomac și funcționează ca un stimulent al apetitului. Nivelul său crește considerabil înainte de masă și diminuează progresiv după ingerarea de alimente. Este considerată un analog al leptinei sintetizată în țesutul adipos. Ghrelina mai este sintetizată și în hipotalamus unde stimulează secreția hormonului de creștere, precum și în adenohipofiză.

Există o serie de hormoni cu structură polipeptidică sintetizați în țesutul adipos, cei mai cunoscuți fiind leptina, adiponectina și rezistina.

Leptina este o citokină sintetizată și secretată în sânge de către adipocite, fiind primul hormon identificat în țesutul adipos. Principala sa funcție constă în diminuarea senzației de foame în urma interacțiunii cu receptori specifici din zona ventro-mediană a hipotalamusului prin intermediul α -MSH și neuropeptidei Y. Prezența leptinei în concentrații crescute determină o creștere a consumului energetic prin accelerarea termogenezei.

Din punct de vedere metabolic, secreția unor cantități crescute de leptină induce lipoliza, diminuează secreția de insulină și încetinește gluconeogeneza. În situația inversă, când concentrația leptinei este scăzută, are loc o accelerare a acumulării lipidelor în țesutul adipos și o amplificare a senzației de foame.

S-ar părea că există diferențe de sex în ceea ce privește secreția de leptină în sensul că, la acumulări adipoase relativ egale, țesutul adipos la femei secretă cantități mai mari de leptină comparativ cu cele sintetizate la bărbați.

Cercetări recente (Farooqi, I. S. et al., 2007) au demonstrat faptul că, o mutație la nivelul genei receptorului leptinei, conduce la obezitate extremă, această mutație fiind responsabilă de apariția obezității juvenile severe la aproximativ 3% dintre subiecții studiați. Cum, însă, nivelul leptinei sanguine este normal, în asemenea situații se impune necesitatea unui diagnostic genetic.

Adiponectina este considerată, astăzi, ca fiind un marker al predispoziției pentru accidente cardio-vasculare. A fost observată o relație inversă între concentrația adiponectinei, pe de o parte, și nivelul insulinemiei, circumferința abdominală și nivelul LDL-colesterolului, pe de altă parte.

Rezistina, denumită astfel după efectul său la nivel tisular, acela de insulino-rezistență, își exercită efectele sale în urma interacțiunii cu

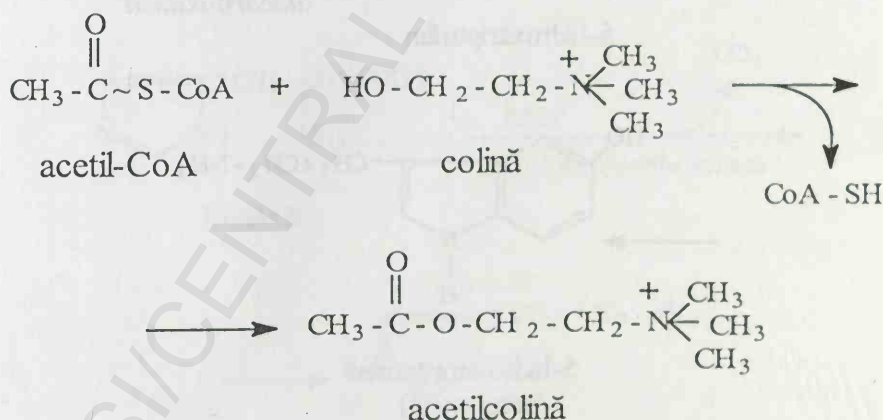
receptorii insulinei din adipocite, hepatocite și celulele musculare. De aceea, adinopectina este responsabilă și de apariția hiperinsulinemiei de reacție. La nivelul țesutului adipos, rezistina accelerează diferențierea pre-adipocitelor în adipocite.

2.4.2. Neurotransmițători

Neuronii sunt capabili să sintetizeze substanțe fiziologic active ale căror celule țintă sunt reprezentate fie de celulele vecine, fie de celule aflate la distanță relativ mare de celulele producătoare.

În funcție de locul acțiunii, aceste substanțe se numesc **neurotransmițători** dacă acționează asupra celulelor vecine și respectiv **neurohormoni** dacă acționează la distanță. Aceste substanțe pot avea atât acțiune excitatoare, cât și inhibitoare. Din categoria neurotransmițătorilor fac parte catecolaminele (analizate pe larg în capitolul 2.2.2), acetilcolina, serotonina, acidul glutamic, acidul γ -aminobutiric, histamina, endorfinele ș.a.

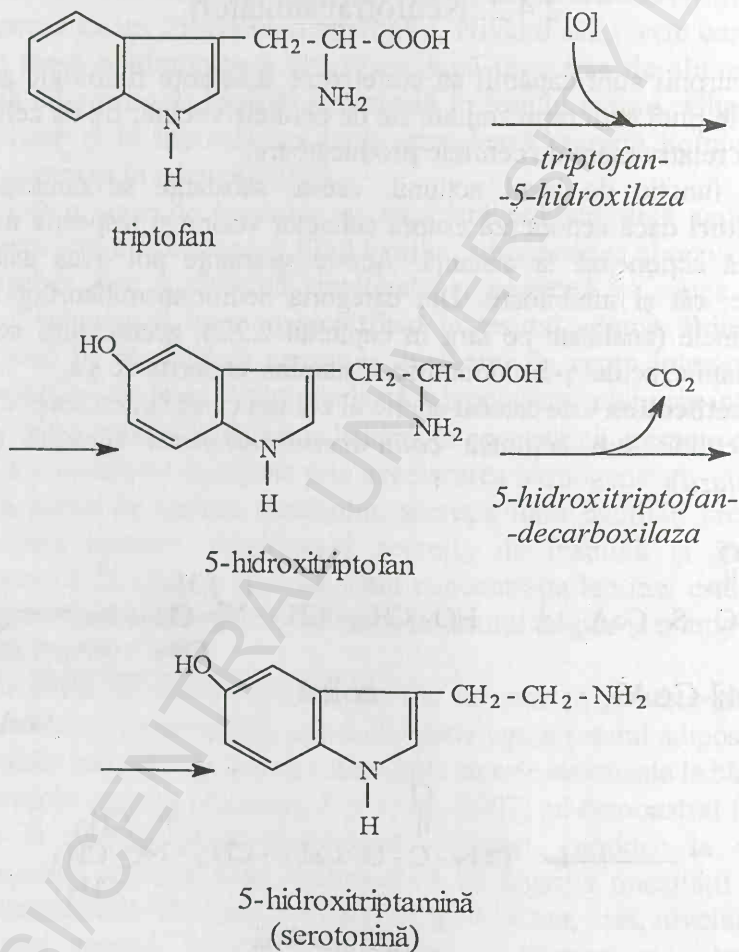
Acetilcolina este esterul acetic al colinei ce se sintetizează din acetil-CoA și colină sub acțiunea *colin-acetiltransferazei* (numită și *colin-transacetilază*):



Acetilcolina este larg răspândită în terminațiile nervoase parasimpatice și ale nervilor motori din sistemul somatic. Rolul biologic al acetilcolinei este datorat capacității acesteia de a suferi o reacție de hidroliză a legăturilor esterice sub acțiunea *pseudocolinesterazei* (sau *colinesterazei nespecifice*), enzimă localizată preponderent în sânge (plasmă), ficat și musculatura netedă și, respectiv, a *acetilcolinesterazei* întâlnită în țesutul nervos și sânge (eritrocite).

Acetilcolina este un neurotransmițător important pentru terminațiile nervoase parasimpatice, sinapsele din ganglioni, terminațiile nervoase din medulosuprarenală precum și pentru sinapsele din sistemul nervos central.

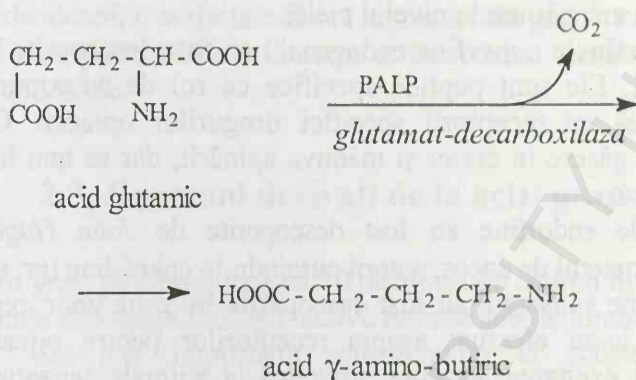
Serotonina este 5-hidroxitriptamina și se sintetizează prin utilizarea triptofanului în calitate de precursor:



Serotonina se întâlnește în mucoasa intestinală, sânge, splină, țesutul nervos etc., iar funcțiile sale biologice nu sunt încă pe deplin elucidate. Se presupune că serotonina reprezintă mediatorul chimic al peristaltismului intestinal și că ar fi implicată în procesul coagulării sanguine.

Rolul de mediator chimic al serotoninii este demonstrat și de faptul că diminuarea concentrației sanguine a acesteia este însoțită de instalarea stării de migrenă.

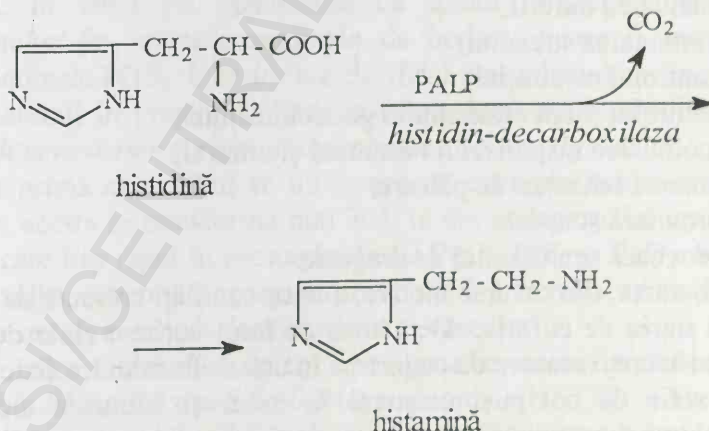
Acidul glutamic și acidul γ -aminobutiric se găsesc, preponderent, în creier, primul fiind precursorul imediat al celui de al doilea:



Acidul glutamic este un neurotransmițător important mai ales la nevertebrate, iar acidul γ -aminobutiric este un mediator al inhibiției în sistemul nervos central.

Dintre **neurohormoni**, cei mai importanți sunt DOP-amina și noradrenalina (descrise pe larg în capitolul 2.2.2), histamina ș.a.

Histamina rezultă prin decarboxilarea enzimatică a histidinei:



Histamina se găsește în toate țesuturile în concentrații ce variază de la o specie la alta, mai puțin sub formă liberă și mai mult sub formă legată, probabil de heparină. Funcțiile biologice ale histaminei nu sunt încă pe deplin elucidate.

Astăzi, se cunoaște cu precizie faptul că histamina stimulează secreția acidă la nivel gastric, realizează activitatea sistemului nervos central

împreună cu serotonina și catecolaminele etc. Se consideră că histamina mai este implicată în medierea unor stări de alergie prin implicarea sa în apariția senzațiilor de mâncărime la nivelul pielii.

Endorfinele („morfine endogene”) au fost descoperite în anii '70 ai secolului XX. Ele sunt peptide specifice cu rol de neurotransmițători ce interacționează cu receptorii specifici drogurilor opiacee. Cantități mai însemnate se găsesc în creier și măduva spinării, dar se mai întâlnesc și în sistemul digestiv.

Primele endorfine au fost descoperite de *John Hughes* și *Hans Kosterlitz* în creierul de cocoș, autorii numindu-le enkefaline (gr. $\epsilon\nu\kappa\epsilon\phi\omicron\lambda\omicron\varsigma$ = în cap). Aceste substanțe au fost descoperite în urma unor experimente pe care autorii le-au efectuat asupra receptorilor pentru opiacee când au descoperit că excitarea acestora provoacă la animale senzația de plăcere. Concret, în cușca șobolanului au instalat o pedală cuplată la o instalație de descărcări electrice.

Inițial, șobolanul a acționat pedala total întâmplător, descărcarea electrică acționând asupra receptorilor opiaceelor. Ulterior, animalul a acționat pedala din ce în ce mai frecvent până în momentul în care nu s-a mai hrănit și a sucombat de inaniție.

Cunoștințele actuale asupra endorfinelor atribuie acestora mai multe funcții biochimice și fiziologice:

- atenuarea durerii;
- diminuarea stresului;
- controlul respirației;
- controlul asupra tranzitului gastrointestinal;
- modularea răspunsului hormonal și umoral;
- crearea senzației de plăcere;
- provoacă somnul;
- provoacă sentimentul de dragoste.

Eliberarea, din diverse motive, a unor cantități crescute de endorfine poate crea starea de euforie. Alergătorii de fond vorbesc chiar de un extaz datorat unei secreții masive de endorfine în urma efortului lor fizic deosebit.

O serie de compuși existenți în tutun și băuturile alcoolice au structură chimică apropiată de cea a endorfinelor și/sau interacționează cu aceiași receptori ai opiaceelor. Din această cauză, multe persoane practică fumatul sau consumul exagerat de alcool pentru a-și crea o stare de „plăcere”. În aceste situații există, însă, riscul major al apariției dependenței care conduce la o perturbare a echilibrului sistemului nervos central.

Practicarea continuă de exerciții fizice determină secreții de endorfine naturale (endogene) de până la cinci ori mai mari decât cele

normale. Din această cauză, în afara tratamentului medicamentos adecvat, se recomandă întotdeauna fumătorilor exagerați și persoanelor la care a apărut dependența de alcool, o activitate fizică regulată (alergări, natație, mersul cu bicicleta etc.) cel puțin 30 de minute pe zi în vederea creșterii „naturale” a secreției de endorfine.

2.3. Hormoni derivați de la acizi grași

Acizii grași polinesaturați cu 20 de atomi de carbon în moleculă sunt precursorii unor substanțe biologice active reunite sub denumirea generică de **eicosanoizi**. Cei mai importanți reprezentanți ai acestei clase sunt prostaglandinele, tromboxanii și leucotrienele.

2.3.1. Prostaglandinele (Pg)

Inițial, prostaglandinele au fost identificate în plasma seminală, iar ulterior în aproape toate organele și țesuturile. Biosinteza prostaglandinelor se realizează prin utilizarea în calitate de precursori a acizilor grași nesaturați cu 20 de atomi de carbon și cu cel puțin 3 legături duble în moleculă. În 1960 s-a demonstrat că acidul arahidonic, sub acțiunea omogenatelor de vezicule seminale de berbec, poate fi transformat în prostaglandinele PGE_2 . Ulterior s-a clarificat mecanismul conversiei acizilor grași nesaturați în prostaglandine, existând două căi metabolice distincte: *calea endoperoxizilor și calea metabolică de tip lipoxigenazic*.

În prima cale, când se utilizează de exemplu acidul arahidonic ca precursor, acesta se transformă mai întâi în doi endoperoxizi instabili (PgG_2 și PgH_2) care trec rapid în prostaglandinele PgE_2 , PgF_2 și PgD_2 . Intermediarii endoperoxidici determină agregarea ireversibilă a trombocitelor și contractia mușchilor netezi ai sistemelor respirator și vascular.

În calea metabolică de tip lipoxigenazic, acidul arahidonic trece în acid 12-L-hidroxicicosa-5,8,10,14-tetraenoic (HETE). Această cale metabolică nu este inhibată de aspirină sau de indometacin cum se întâmplă în calea endoperoxidazică. Până în prezent au fost izolate și caracterizate 16 prostaglandine clasificate în 6 grupe (E, A, B, C și D), în funcție de gruparea funcțională din nucleul ciclopentanic al moleculei. La acestea se mai adaugă câteva prostaglandine obținute prin sinteză chimică.

Prostaglandinele îndeplinesc mai multe funcții în organism. În funcționarea sistemului nervos central, prostaglandinele formează un flux

aproape identic cu cel al catecolaminelor și indolalchilaminelor din structurile simpatice. Se pare că ele îndeplinesc rol de mediatori chimici la nivelul sinapselor din sistemul nervos central, fiind sintetizate sub acțiunea unor stimuli nervoși și apoi, după ce și-au îndeplinit rolul, se inactivează fie la nivel cerebral, fie la nivel medular sau chiar periferic.

La nivel renal, în celulele zonelor medulare, unele prostaglandine (PgA_2 , PgE_2 , PgF_2 etc.) prezintă o acțiune antihipertensivă și antidiuretică. Prin utilizarea de țesuturi adipoase s-a pus în evidență faptul că PgE_2 și PgF_2 participă la mecanismul de reglare a lipolizei prin care își exercită efectele metabolice unui hormon glandular.

La baza acestui mecanism stă capacitatea prostaglandinelor de a stimula activitatea *adenilat-ciclazei* din membrana adipocitară, provocând, în felul acesta, creșterea concentrației celulare de AMPc, a activității *lipazei* și a *fosforilazei A* din țesutul adipos. Cercetări referitoare la distribuția prostaglandinelor în diferite organe și țesuturi din organismul uman au indicat prezența acestor compuși în aproape întreg organismul (tabelul 2.3).

Tabelul 2.3

Distribuția prostaglandinelor în organismul uman*

Organul (tesutul)	PgE_1	PgE_2	PgE_3	PgF_1	PgF_2	PgF_3
Plasmă seminală	+	+	+	+	+	
Lichid menstrual		+			+	
Lichid amniotic	+	+		+	+	
Endometru		+			+	
Cordon ombilical	+	+		+	+	
Vase placentare	+	+		+	+	
Plămâni					+	

* Lefebvre, 1975 citat de Metzler, 2001.

Cantitativ însă, concentrația prostaglandinelor este foarte diferită de la un țesut la altul precum și în diferite stări fizio-patologice (tabelul 2.4).

Tabelul 2.4

Concentrația prostaglandinelor în timpul sarcinii și al travaliului (ng/ml)*

Organul (tesutul)	PgE_1	PgE_2	PgF_1	PgF_2
Lichid amniotic:				
– naștere prematură	0,06–3,10			
– naștere la termen	0,11–4,10			
– în timpul travaliului	1,00	0,5	140	5,5–57

Tabelul 2.4 (continuare)

Sânge matern				
– naștere prematură				0
– în timpul travaliului				6,34
– un minut înainte de contracții				0
– după contracții				0

* Lefebvre, 1975 citat de Metzler, 2001.

2.3.2. Tromboxanii (TX)

Din punct de vedere structural, tromboxanii sunt asemănători cu prostaglandinele, cu deosebirea că ciclul pentanic este înlocuit cu un heterociclu hexaatomic cu un heteroatom de oxigen.

Precursorul tromboxanilor este reprezentat tot de acizii grași poli-nesaturați.

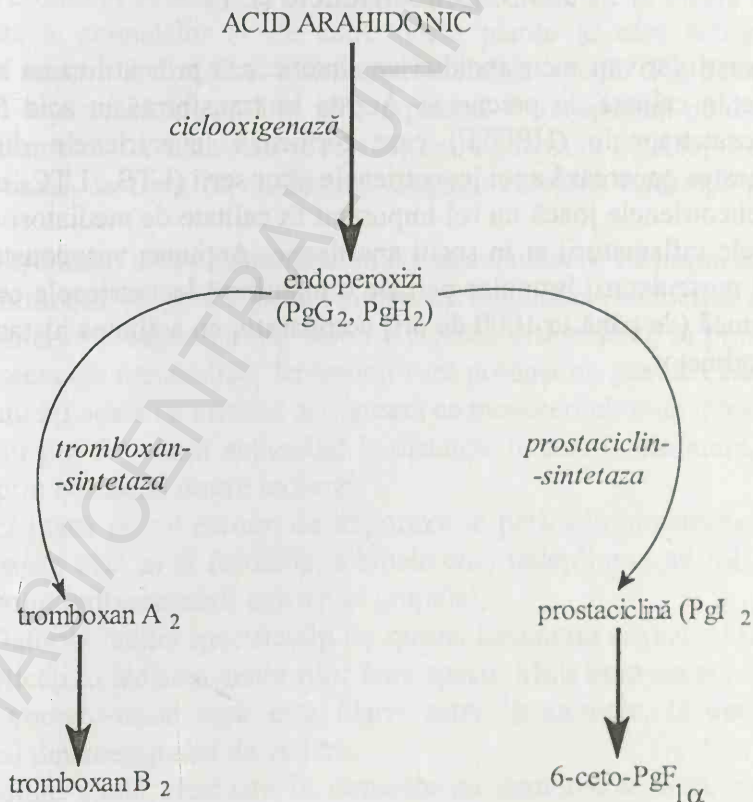


Figura 2.38. Reprezentarea schematică a căilor de biosinteză a tramboxanilor și prostacilinelor (Berg et al., 2002).

De exemplu, acidul arahidonic trece în PgG_2 sub acțiunea unei *endoperoxidsintetaze* specifice după care PgG_2 trece în PgH_2 . Sub acțiunea *prostaciclinsintetazei*, PgH_2 formează prostaciclina (Pgl_2) care trece în tromboxanul TXA_2 sub acțiunea *tromboxan-sintetazei* (fig. 2.38).

Rolul biologic al tromboxanilor constă în acțiunea vasoconstrictoare și stimularea agregării plachetare fiind astfel implicați în hemostază. Tromboxanii din seria TX_2 acționează ca antagoniști ai prostaciclinei.

Între acțiunile Pgl_2 și TX_2 există un echilibru dinamic, iar perturbarea acestui echilibru stă la baza patogeniei infarctului de miocard. Aceste acțiuni sunt demonstrate și de incidența bolilor de inimă. Astfel, la eschimoși, datorită consumului de ulei de pește bogat în acid 5,8,11,14,17-eicosapentaenoic care este precursorul tromboxanilor din seria TX_3 , se constată o incidență foarte scăzută a bolilor cardiovasculare.

2.3.3. Leucotrienele (LT)

Acești derivați eicosanoidici se sintetizează prin utilizarea acidului arahidonic în calitate de precursor. Acesta se transformă în acid 5-hidroperoxieicosatetraenoic (HPETE) care formează leucotrienele din seria LTA_4 . Acestea generează apoi leucotrienele altor serii (LTB_4 , LTC_4 etc.).

Leucotrienele joacă un rol important în calitate de mediatori chimici în procesele inflamatorii și în șocul anafilactic. Acțiunea vasoconstrictoare la nivelul musculaturii bronhice pe care o manifestă leucotrienele este mult mai puternică (de până la 1000 de ori) comparativ cu acțiunea histaminei și prostaglandinelor.

3. HORMONII NEVERTEBRATELOR

Hormonii reprezintă o clasă de substanțe biologice active specifice nu numai mamiferelor. Ei se întâlnesc și la alte animale, inclusiv la nevertebrate și chiar la plante.

Hormonii nevertebratelor mai sunt cunoscuți și sub numele de **feromoni** (gr. φερειν = *a transporta* și ηορμωο = *a excita*), deși aceste substanțe biologice active se întâlnesc nu numai la nevertebrate ci și la majoritatea animalelor, inclusiv omul, precum și la unele plante.

Feromonii se definesc ca fiind substanțe eliminate în mediu de marea majoritate a animalelor și de către unele plante și care acționează ca mesageri asupra indivizilor aparținând aceleiași specii. Fiind extrem de activi, ei acționează în cantități infime putând fi transportați pe distanțe de câțiva kilometri. La mamifere și reptile, feromonii sunt detectați de organul vomero-nazal, în timp ce, la insecte, organul receptor este reprezentat de antene.

Feromonii sunt substanțe chimice asemănătoare cu hormonii dar, în timp ce hormonii propriu-ziși sunt sintetizați în glandele endocrine și circulă doar în interiorul organismului care i-a produs, influențând, în primul rând, diferite secvențe metabolice, feromonii sunt produși de glande exocrine sau sunt eliminați odată cu urina și acționează ca mesageri chimici între indivizi. Feromonii pot fi volatili acționând la distanță, uneori foarte mare, sau pot acționa prin contactul dintre indivizi.

Ei joacă un rol extrem de important în perioada împerecherii, iar la unele insecte cum ar fi furnicile, albinele etc., îndeplinesc un rol „social”, fiind absolut indispensabili existenței grupului.

Datorită înaltei specificități de specie, feromonii sexuali ai insectelor sunt implicați în izolarea genitorilor între specii. Mult timp s-a considerat că organul vomero-nazal care este foarte activ la animale, la om nu este funcțional din acest punct de vedere.

Multe studii efectuate în domeniu au demonstrat, însă, contrariul. Mai mult de atât, se încearcă din ce în ce mai mult în ultimul timp obținerea diferiților feromoni prin sinteză chimică.

Termenul de feromon a fost utilizat prima dată de biochimistul german *Martin Lüscher* în 1959 care a definit atunci feromonii ca fiind „substanțe secretate de indivizi care, receptate de alți indivizi aparținând aceleiași specii, provoacă o reacție specifică, un comportament sau o modificare biologică”. În funcție de modul de acțiune asupra indivizilor țintă, feromonii se împart în două clase principale:

a) **feromoni de tip A** – sunt feromoni excitanți ce influențează comportamentul;

b) **feromoni de tip B** – sunt feromoni de modificare ale căror acțiuni produc diferite modificări ale biologiei speciilor respective.

O altă clasificare a feromonilor se face în funcție de efectul acțiunii lor asupra indivizilor țintă, din acest punct de vedere existând șapte clase de feromoni.

1. **Feromoni de teritoriu.** Prin răspândirea în mediu, aceștia delimitează un anumit teritoriu al speciei respective. La unele specii acești feromoni se elimină masiv pe cale renală, iar indivizii speciei respective își „marchează” teritoriul prin urinare în diferite repere.

2. **Feromoni de traseu.** Aceștia se întâlnesc cu precădere la insectele „sociale”. Furnicile de exemplu își marchează traseele cu acești hormoni care, din punct de vedere structural sunt hidrocarburi nevolatile.

3. **Feromoni de alarmă.** Sunt substanțe volatile pe care indivizii le eliberează în mediu în cazul atacurilor prădătorilor și care declanșează fuga (de exemplu la *aphididae*) sau agresiunea (la albine) la alți indivizi din aceeași specie.

Feromonii din această clasă se întâlnesc și în lumea vegetală. Atunci când sunt bruscate, unele plante eliberează feromoni de alarmă. Plantele vecine reacționează producând taninuri care le fac mai puțin „apetisante” pentru animalele erbivore.

4. **Feromoni sexuali.** Se mai numesc și atractanți sexuali și joacă un rol extrem de important în înmulțire. Ei pot indica, de exemplu, disponibilitatea femelelor de a fi fecundate. Există specii de fluturi care, datorită atractanților sexuali, pot detecta partenerii sexuali la distanțe de peste 10 kilometri.

5. **Feromoni epideictici sau de spațiere.** Se întâlnesc preponderent la insecte și pot fi considerați ca având funcții opuse feromonilor de teritoriu. Femelele care urmează să-și depună ouăle în fructe, eliberează acești feromoni în vecinătate pentru a înlătura alte femele din aceeași specie.

6. **Feromoni de agregare.** Sunt produși de masculi sau femele pentru a atrage indivizii aparținând celor două sexe.

7. **Alți feromoni.** În această grupă sunt incluși toți ceilalți feromoni care nu au fost clasificați încă.

Feromonii pot fi eliminați de indivizi ai diferitelor specii de animale în moduri extrem de diferite. Ei pot fi depistați pe piele, în blană, glande sebacee și sudoripare, salivă, aerul expirat, secreții ale glandelor urogenitale, secreții vaginale (la primate), glandele anale, urină, fecale etc. În general, feromonii sunt percepuți de organul vomero-nazal (numit și organ Jacobson), iar la mamifere de către sistemul olfactiv principal.

Cercetări recente indică existența unei a două categorii de receptori olfactivi care se pare că recunosc feromonii eliberați de șoarecii masculi.

La om, feromonii pot fi secretați de către bărbați în transpirația apocrină axilară și perineală (androstenu și androstenuolul), precum și în spermă (spermina și spermidina) (Cowley and Brooksbank, 1991).

La femei, feromonii sunt eliberați în transpirația apocrină axilară, mamelonară și perineală, precum și în secrețiile vaginale produse de glandele atriale și glandele Skene (acizi grași cu catenă scurtă).

La specia umană, efectele cele mai semnificative ale feromonilor sunt de ordin psihologic cum ar fi de exemplu sincronizarea ciclurilor menstruale la femei care trăiesc în diferite comunități (internate, închisori etc.). Dintre hormonii nevertebratelor, în prezent, cel mai bine studiați sunt hormonii crustaceelor și cei ai insectelor.

3.1. Hormonii crustaceelor

La crustacee, hormonii reglează o serie de procese biochimice și fiziologice specifice acestor viețuitoare dintre care mai importante sunt reprezentate de reglarea proceselor de degradare și biosinteză, a creșterii și dezvoltării caracterelor sexuale etc.

Fenomenul de năpârlire caracteristic crustaceelor este influențat de trei hormoni importanți: hormonul năpârlirii, hormonul inhibitor al năpârlirii și, respectiv, hormonul accelerator al năpârlirii. **Hormonul năpârlirii** este sintetizat în organele Y, iar rolul său principal îl constituie declanșarea năpârlirii. În același timp, el are rolul de a controla mobilizarea calciului din vechea crustă în vederea reutilizării la formarea celei noi.

Hormonul inhibitor al năpârlirii este sintetizat de organele X ale ganglionilor terminali și are o acțiune opusă celei exercitate de hormonul năpârlirii. Această funcție se realizează prin acțiunea de inhibiție exercitată asupra organelor Y care, în felul acesta, întrerup elaborarea unor noi cantități de hormon al năpârlirii.

Hormonul accelerator al năpârlirii are o acțiune aparte, în sensul că el stimulează organele Y de a sintetiza hormonul năpârlirii la un moment

determinat, concomitent cu întreruperea acțiunii hormonului inhibitor. Aceleași organe Y elaborează și hormonul gonadotrop cu rol în dezvoltarea gonadelor.

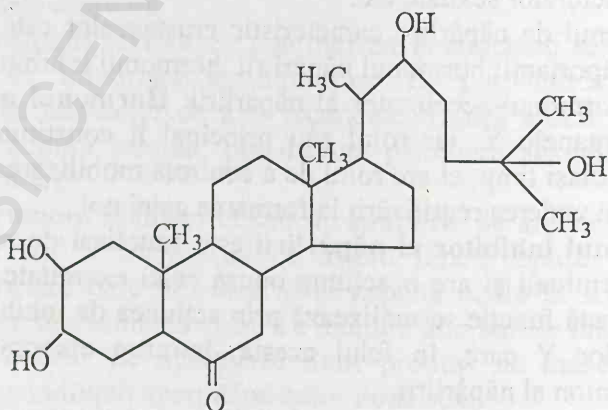
Glandele sinusale și organele postcomisurale ale crustaceelor sintetizează și secretă o serie de hormoni cu structură polipeptidică numiți **hormoni cromatoforotropi** al căror rol principal îl constituie reglarea concentrării și, respectiv, dispersării pigmentilor în cromatofori.

3.2. Hormonii insectelor

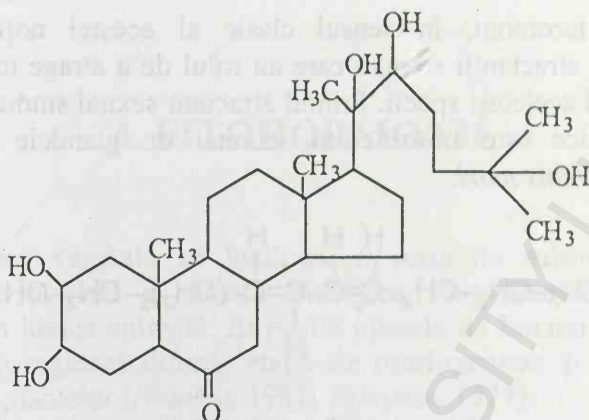
Ca și în cazul crustaceelor, în organismul insectelor se sintetizează o serie de hormoni cu rol de control metabolic și de reglare a diferitelor procese fiziologice specifice lor cum ar fi creșterea, năpârlirea, metamorfoza etc. Ei sunt secretați de celule specializate neurosecretoare din creier și ganglioni, glandele endocrine, glandele protoracice etc. Celulele neurosecretoare din creier sintetizează și secretă trei hormoni principali cu rol de reglare și control: hormonul protoracotrop (ecdisiotropina), hormonul de activare și bursiconul.

Ecdisiotropina are rol reglator asupra glandei protoracice controlând astfel secreția ecdisonelor de către aceasta. **Hormonul de activare** reglează biosinteza și secreția hormonului juvenil la stadiu larvar, iar **bursiconul** determină închiderea culorii și întărirea cuticulei la insectele mature.

Larvele insectelor sintetizează și o serie de hormoni cu structură steroidică cunoscuți sub denumirea de **ecdisone**. Printre acestea, cele mai importante sunt α - și β -ecdisona care au fost identificate prima dată în pupele de *Bombix mori* (fig. 3.1).



α -ecdisonă



β -ecdisonă

Figura 3.1. Structura chimică a ecdisonelor.

Rolul biologic al ecdisonelor constă în inițierea năpârlirii prin inducția enzimelor implicate în metabolismul chitinei. Ele mai stimulează diviziunea celulelor epidermice ale larvelor.

Hormonul juvenil (HJ) numit și **hormon larvar**, este reprezentat de mai mulți esteri ai metanolului cu acizi sesquiterpenici (fig. 3.2).

Rolul biologic al hormonului juvenil constă în stimularea gametogenezei și inhibiția metamorfozei datorită faptului că stopează trecerea larvei în pupă și, respectiv, în insectă adultă.

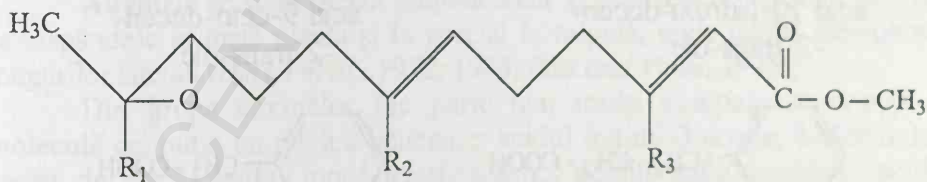


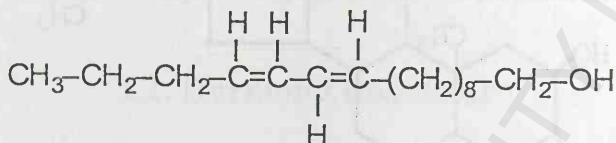
Figura 3.2. Structura chimică a hormonului juvenil:

$R_1 = R_2 = R_3 = -C_2H_5$; HJO; $R_1 = R_2 = -C_2H_5$; $R_3 = -CH_3$; HJI; $R_1 = R_3 = CH_3$; $R_2 = -C_2H_5$; HJII; $R_1 = R_2 = R_3 = -CH_3$; HJIII

Feromonii au fost definiți inițial ca fiind substanțe de informare între indivizi aparținând aceleiași specii de insecte.

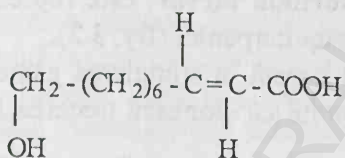
Mai târziu, s-a constatat că acești hormoni pot fi sintetizați de majoritatea animalelor, inclusiv omul și chiar de unele plante (Foidart et al., 1994).

Dintre feromoni, în sensul clasic al acestei noțiuni, cei mai importanți sunt atractanții sexuali care au rolul de a atrage indivizii de sex opus aparținând aceleiași specii. Primul atractant sexual studiat sub aspectul structurii chimice este **bombicolul** secretat de glandele odorifere ale femelelor de *Bombix mori*:

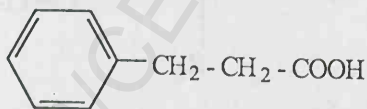


Acest hormon se sintetizează sub formă de esteri sau ceride, iar prin hidroliză ia naștere hormonul liber, volatil, care difuzează în aer. El poate fi receptat de masculul de la distanțe de câteva sute sau chiar mii de metri.

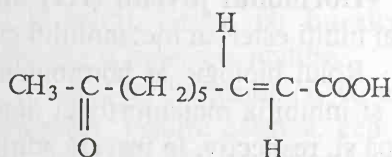
Din glandele mandibulare ale albinelor lucrătoare s-a izolat acidul 10-hidroxi-decen-2-*trans*-oic, iar din cele ale măciei acidul 9-ceto-decen-2-*trans*-oic care sunt cunoscuți sub denumirea generică de **feromon T**, iar acizii fenil-propionic și fenil-acetic, întâlniți la albinele vârstnice, alcătuiesc **feromonul II**:



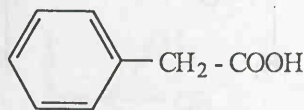
acid 10-hidroxi-decen-
-2-*trans*-oic



acid fenil-propionic



acid 9-ceto-decen-
-2-*trans*-oic



acid fenil-acetic

Foarte mulți atractanți sexuali întâlniți la alte specii de insecte sunt esteri ai unor alcooli nesaturați cu acidul acetic și cu acidul izovalerianic. În multe cazuri, glandele odorifere ale femelelor secretă un amestec de mai mulți hormoni din care unul este componentul principal.

4. FITOHORMONII

În lumea vegetală se întâlnesc o serie de substanțe ale căror mecanisme de acțiune și funcții biologice sunt asemănătoare cu ale hormonilor din lumea animală. Ei poartă numele de **hormoni vegetali** sau **fitohormoni** și reglează diferite etape ale morfogenezei și diferite funcții fiziologice ale plantelor (Neamțu, 1981; Thimann, 1977).

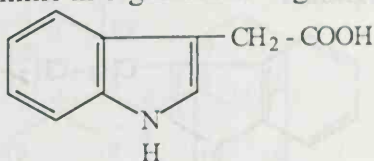
Hormonii vegetali sau fitohormonii se definesc ca fiind molecule endogene oligodinamice (ceea ce înseamnă că se disting net de substanțele trofice din punct de vedere biochimic și fiziologic) cu rol de vectori ai unor informații pentru celulele țintă ce prezintă sensibilitate selectivă față de acțiunea acestora, celule a căror funcționare o influențează (Javobs, 1979; Nickell, 1982).

Spre deosebire de hormonii animalelor, fitohormonii se disting prin absența țesuturilor specializate care să-i sintetizeze, prin absența, de cele mai multe ori, a unui sistem de transport și prin faptul că informația ce declanșează biosinteza fitohormonilor provine, preponderent, direct din mediul exterior (lumină, stres etc.) (Hertel et al., 1972; 1983).

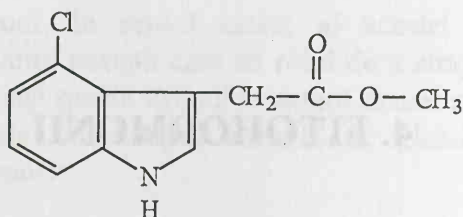
Fitohormonii cunoscuți în prezent au fost clasificați în 5 grupe în funcție de structura lor chimică: auxinele, giberelinele, citokininele, grupa acidului abscisic și etilena (Moore, 1979; Pharis and Reid, 1985).

Auxinele se sintetizează preponderent în punctele de creștere de unde se răspândesc în toată planta și în special în tulpină, unde inhibă dezvoltarea mugurilor laterali (Hertel et al., 1972; 1983; Batt and Venis, 1976).

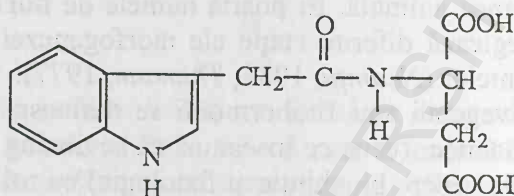
Din grupa auxinelor fac parte mai mulți compuși ce conțin în moleculă cel puțin un nucleu benzenic: acidul indolil-3-acetic, 4-clor-indol-acetat de metil, acidul indol-acetil-aspartic, acidul naftalen-acetic, acidul 2,4-dicloro-fenoxiacetic etc., primii trei fiind cel mai bine studiați sub aspectul rolului lor biochimic în organismele vegetale:



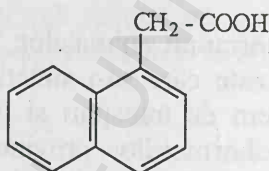
acid indolil-
-3-acetic



4-clor-indol-acetat de metil

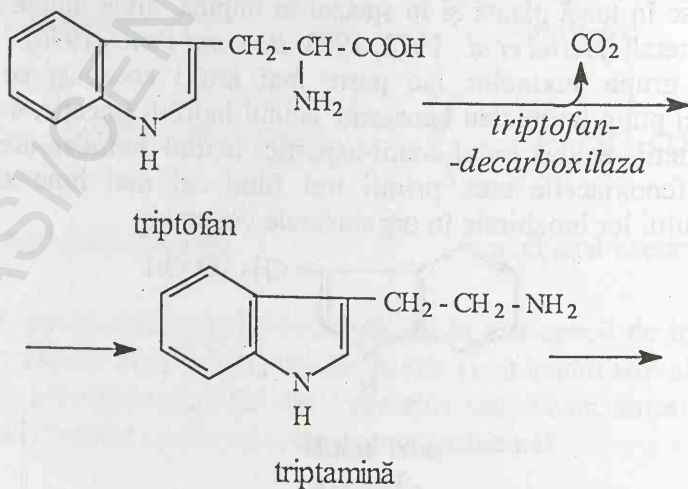


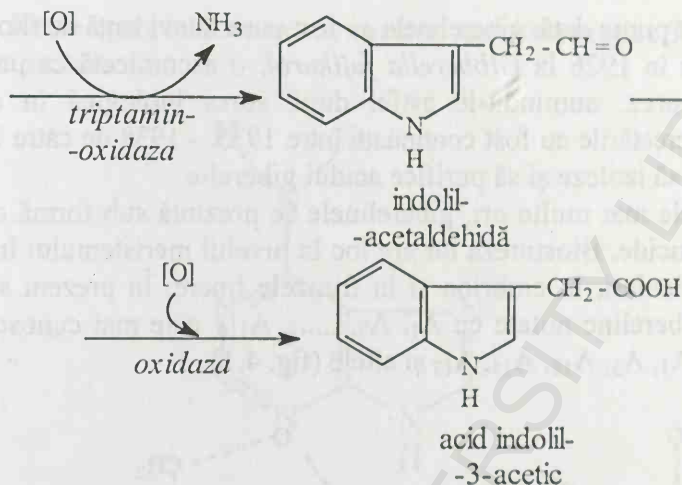
acid indol-acetil-aspartic



acid naftalen-acetic

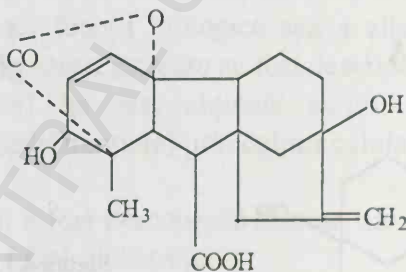
Cel mai important reprezentant al acestei clase este acidul **indolil-3-acetic** pentru biosinteza căruia se utilizează triptofanul în calitate de precursor:





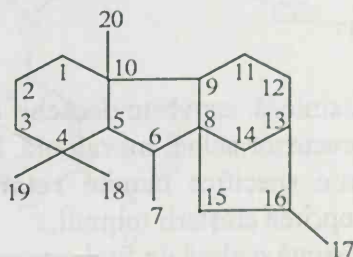
Acidul indolil-3-acetic mai poate fi sintetizat și pe o altă cale: prin transaminare, triptofanul este convertit în acid indolil-3-piruvic care, prin decarboxilare, formează aldehida indolil-acetică. Ultima reacție (cea de oxidare a aldehydei) este comună cu cea a căii descrise mai sus.

Giberelinele reprezintă o familie de fitohormoni ce derivă de la acidul giberelic:



acid giberelic sau giberelina A_3

Toate giberelinele au un schelet comun fiind, din punct de vedere structural, diterpenoide tetraciclice:



nucleul de bază al structurii giberelinelor

Pentru prima dată, giberelinele au fost puse în evidență de fitopatologul E. Kurosawa în 1926 la *Gibberella fujikuroi*, o ascomicetă ce parazitează plantele de orez, numindu-le astfel după sursa biologică în care le-a identificat. Cercetările au fost continuate între 1935 – 1938 de către T. Yabuta care reușește să izoleze și să purifice acidul giberelic.

De cele mai multe ori, giberelinele se prezintă sub formă conjugată cu diferite glucide. Biosinteza lor are loc la nivelul meristemului în mugurii terminali radiculari, în embrion și în frunzele tinere. În prezent se cunosc mai multe gibereline notate cu A₁, A₂, ... A₁₁₀, cele mai cunoscute fiind giberelinele A₁, A₃, A₁₂, A₁₅, A₁₇ și altele (fig. 4.1).

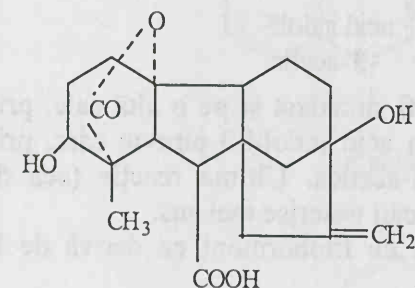
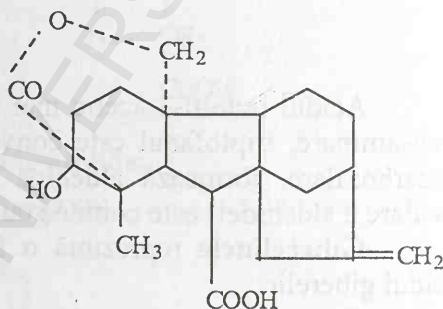
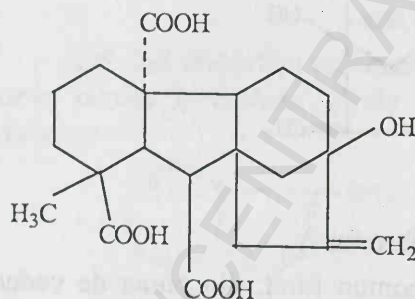
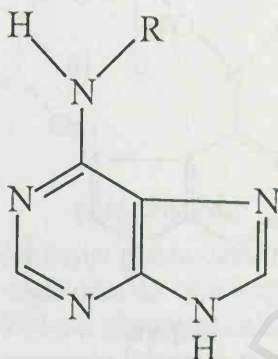
giberelina A₁giberelina A₁₅giberelina A₁₇

Figura 4.1. Structura chimică a diferitelor gibereline.

În procesul de biosinteză, care este deosebit de intens în plastide, se utilizează în calitate de precursor acidul mevalonic. Biosinteza giberelinelor este inhibată de substanțe specifice numite **retardanți** a căror acțiune determină, deci, indirect oprirea creșterii tulpinii.

Citokininele reprezintă o clasă de fitohormoni absolut indispensabili dezvoltării plantelor. Din punct de vedere structural sunt compuși cu o

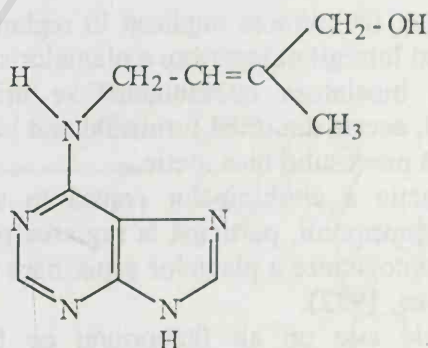
structură foarte apropiată de cea a bazelor azotate purinice fiind, de fapt, adenine substituite:



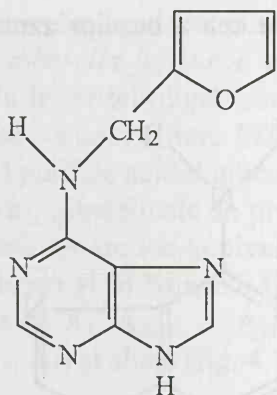
structura de bază a citokininelor

Istoricul studiului citokininelor începe în 1902 când *Gottlieb Haberlandt* enunță conceptul de totipotență celulară conform căruia celulele vegetale diferențiate sunt capabile să se dediferențieze și apoi să se rediferențieze în vederea îndeplinirii unei funcții biologice sau a alteia. Cu toate acestea, citokininile implicate în aceste procese au fost descoperite abia în anii '40 ai secolului XX. În 1941 au fost obținute pentru prima dată calusuri (aglomerări de celule nediferențiate) prin culturi celulare *in vitro* în prezență de lapte de cocos.

După 30 de ani, a fost descoperită zeatina, iar în 1956 a fost izolată kinetina, utilizându-se ADN-ul de pește:

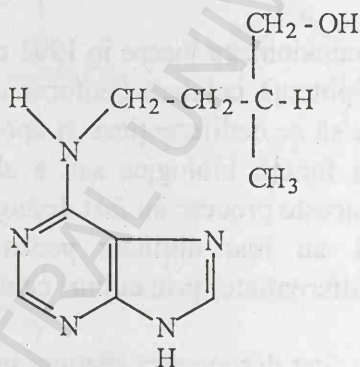


zeatină



kinetină

O altă citokinină destul de frecvent întâlnită la diferite plante este dihidrozeatina, derivatul parțial saturat al zeatinei:

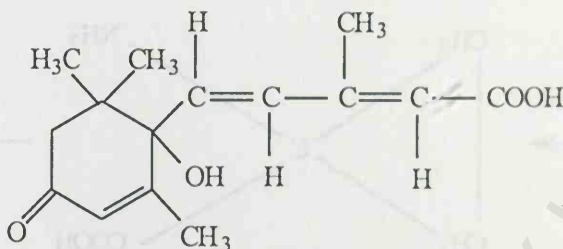


dihidrozeatina

Citokininele sunt fitohormoni implicați în reglarea diferitelor procese fiziologice pe parcursul întregii ontogeneze a plantelor superioare. În calitate de precursor pentru biosinteza citokininelor se utilizează izopentenil-pirofosfatul și ATP-ul, acesta din urmă furnizând atât baza azotată (adenina) cât și energia necesară procesului biosintetic.

Principala funcție a citokininelor constă în stimularea diviziunii celulare și, ca toți fitohormonii, participă la reglarea proceselor fiziologice pe parcursul întregii ontogeneze a plantelor superioare (*Guern and Peaud – Lenoel, 1981; Trewavas, 1982*).

Acidul abscisic este un alt fitohormon ce face parte din clasa sesquiterpenelor, ce poate fi sintetizat prin utilizarea în calitate de precursor fie a acidului mevalonic, fie a carotenilor. Structura sa chimică este următoarea:



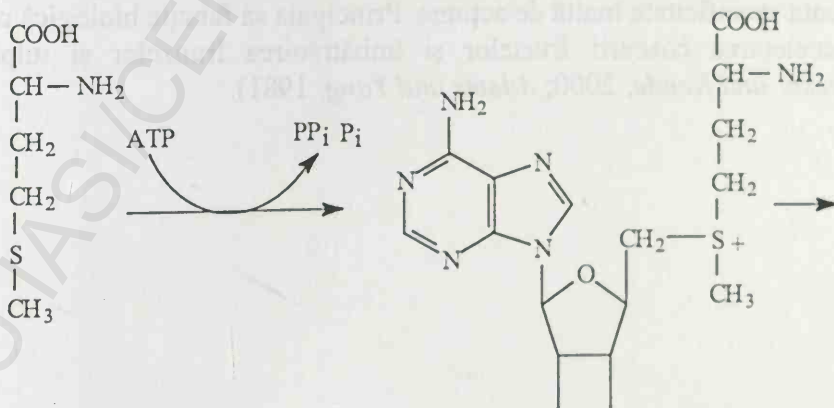
acid abscisic

Acidul abscisic a fost izolat prima dată în 1963 când a primit numele de „abscisină” deoarece se considera că este implicat în căderea frunzelor la planta de bumbac, iar în 1964 s-a presupus existența unui fitohormon numit „dormină” responsabil de starea de latență a mugurilor. În fine, în 1965, s-a concluzionat faptul că, de căderea frunzelor și de latența mugurilor este responsabil unul și același fitohormon căruia i s-a atribuit denumirea de acid abscisic (*Addicott and Lyon, 1969; Raschke, 1975; Raschke et al., 1975*).

Acidul abscisic se inactivează foarte ușor fie prin oxidare (când trece mai întâi în acid faseic și apoi în acid 4'-dihidrofaseic), fie prin conjugare cu diferite monozaharide cum ar fi de exemplu conjugarea sub forma esterului acid abscisic- β -D-glucoză (*Owen, 1988*).

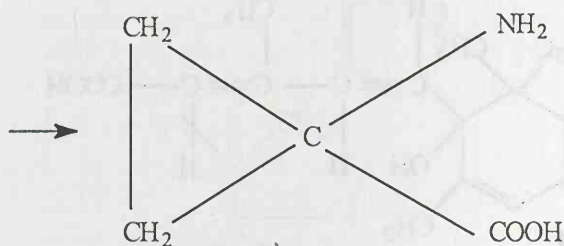
Cantitățile cele mai mari de acid abscisic se întâlnesc în frunzele bătrâne, fructele coapte, semințe etc. Principala acțiune biologică a acidului abscisic este aceea de a inhiba creșterea plantelor, fenomen prin care se pregătește planta pentru repaus (*Dörffling and Tietz, 1985*).

Etilena ($\text{CH}_2=\text{CH}_2$) este o hidrocarbură nesaturată pe care plantele o sintetizează plecând de la S-adenozil-metionină care, prin dezaminare și decarboxilare enzimatică, trece în 5'-tiometil-adenozină, etilenă și acid formic:



L-metionină

S-adenozil-metionină



acid 1-amino-ciclopropan-1-carboxilic



etilenă

Rolul de hormon vegetal al etilenei (etenă) a fost observat prima dată în 1901 când s-a remarcat faptul că frunzele plantelor situate în apropierea lampadelor (folosite la acea vreme la iluminatul public) cădeau prematur.

În 1910 s-a observat că fructele rezistă mai bine în aer liber decât cele învelite ermetic, făcându-se pentru prima dată legătură cu implicarea etilenei pentru ca în 1934 să fie clarificată calea metabolică prin care această hidrocarbură se formează în plante.

Astăzi se cunoaște cu precizie că etilena modulează diferite secvențe metabolice la plante, fiind responsabilă de reacția plantelor la stresul biotic și abiotic (*Metraux and Kende, 1983*).

Această mare diversitate de acțiuni ale etilenei se explică prin faptul că acest fitohormon, având o structură chimică extrem de simplă, nu poate prezenta specificitate înaltă de acțiune. Principala sa funcție biologică constă în accelerarea coacerii fructelor și îmbătrânirea frunzelor și tulpinilor (*Bleecker and Kende, 2000; Adams and Yang, 1981*).

ANEXE

Tabelul 1

Correspondența între sistemul internațional de unități și unitățile tradiționale de concentrație pentru principalii hormoni*

Nr. crt.	Hormonul	Unități tradiționale (UT)	Factor conversie (UT->UI)	Unități Internaționale (UI)	Factor conversie (UI->UT)
1	Adrenalină	μg/l	5,458	nmoli/l	0,1832
2	Aldosteron	μg/l	2,774	nmoli/l	0,360
3	17-Cetosteroizi	mg/l	3,467	μmoli/l	0,2884
4	Cortizol	mg/l	2,76	μmoli/l	0,3625
5	ACTH	ng/l	0,220	pmoli/l	4,541
6	11-Deoxi-corticosteroizi	μg/l	0,3026	μmoli/l	330,4
7	17-Hidroxi-corticosteroizi	mg/l	2,759	μmoli/l	0,362
8	Insulină	μg/l	172,2	pmoli/l	0,0058
9	Iod proteic (PBI) + iod hormonal(BEI)	μg/l	7,88	nmoli/l	0,127
10	Noradrenalină	μg/l	5,911	nmoli/l	0,169
11	Estradiol	μg/l	3,671	nmoli/l	0,272
12	Estriol	μg/l	3,468	nmoli/l	0,288
13	Estronă	μg/l	3,70	nmoli/l	0,270
14	Pregnanđiol	mg/l	3,120	μmoli/l	0,321
15	Pregnantriol	mg/l	2,972	μmoli/l	0,336
16	Progesteronă	μg/l	3,180	nmoli/l	0,315
17	Testosteron	μg/l	3,467	nmoli/l	2,228
18	T ₄	μg/l	1,287	nmoli/l	0,777
19	T ₃	μg/l	0,154	nmoli/l	6,51

* Idelman, S., 1990.

Valorile normale ale unor parametri biochimici

Dat fiind faptul că acțiunile specifice ale vitaminelor și hormonilor stau la baza mecanismelor de reglare și control a diferitelor procese metabolice, redăm în această anexă valorile fiziologic normale ale principalilor parametri biochimici în plasma sanguină și urină.

Tabelul 2

Valorile fiziologic normale ale unor parametri biochimici în sânge*

Nr. crt.	Parametrul biochimic	Unități internaționale	Unități tradiționale
1	Uree	2,5 – 6,0 mmoli/l	0,15 – 0,36 g/l
2	Creatinină	53 – 106 mmoli/l	20 – 40 mg/l
3	Glucoză	4 – 6 mmoli/l	0,75 – 1,10 g/l
4	Acid uric	178 – 420 μ moli/l	30 – 70 mg/l
5	Colesterol	4 – 7 mmoli/l	1,5 – 2,8 g/l
6	Colesterol-HDL	0,7 – 2,0 mmoli/l	0,28 – 0,78 g/l
7	Colesterol-LDL	2,5 – 4,5 mmoli/l	0,95 – 1,75 g/l
8	Colesterol LDL/HDL	Bărbați: sub 3,5 Femei: sub 3,0	
9	Sodiu	–	135 mEq/l
10	Potasiu	–	4,1 mEq/l
11	Clor	–	95 – 105 mEq/l
12	Rezervă alcalină (HCO ⁻)		24 – 28 mEq/l
13	Calciu	2,25 – 2,75 mmoli/l	90 – 110 mg/l
14	Magneziu	0,7 – 1,0 mmoli/l	17 – 24,3 mg/l
15	Magneziu proteic	1,65 – 2,50 mmoli/l	40,0 – 60,7 mg/l
16	Fosfor	1,0 – 1,4 mmoli/l	30 – 159 μ g/l
17	Fier (sideremie)	10,6 – 28,5 μ moli/l	59,2 – 159 μ g/l

*Cojocaru și colab., 1999.

Rîscul de ateroscleroză crește de 2 ori dacă:

LDL/HDL > 9,5 la bărbați;

> 7,0 la femei și de 3 ori dacă:

LDL/HDL > 23,5 la bărbați;

> 11,0 la femei.

Tabelul 3

Valorile fiziologice normale ale unor parametri biochimici în urină*

Nr. crt.	Parametrul biochimic	Unități internaționale	Unități tradiționale
1.	Acid uric	2,4–4,8 mmoli/24h	400–800 mg/24h
2.	Calciu	2,50–6,25 mmoli/24h	100–250 mg/24h
3.	Creatinină: bărbați femei	10,6–12,4 mmoli/24h 8,85–12,3 mmoli/24h	1,2–2,5g/24h 1,0–1,4 g/24h
4.	Magneziu	0,41–0,82 mmoli/24h	10–20 mg/24h
5.	Fosfor	12,8–25,6 mmoli/24h	400–800 mg/24h
6.	Uree	300–600 mmoli/24h	18–36 g/24h

* Cojocaru și colab., 1999.

Tabelul 4

Valorile fiziologice normale ale concentrațiilor sanguine ale unor hormoni, dozați prin metode ELISA*

Analiza	Unități
HCG	
1 săptămână	5 – 50 mU.I./ml
2 săptămâni	40 – 200 mU.I./ml
3 săptămâni	100 – 500 mU.I./ml
4 săptămâni	700 – 1000 mU.I./ml
2 – 3 luni	12000 – 200000 mU.I./ml
4 – 6 luni	24000 – 55000 mU.I./ml
7 – 9 luni	6000 – 48000 mU.I./ml
LH	
Faza foliculară	0 – 20 mU.I./ml
Vârf ovulatoriu	20 – 40 mU.I./ml
Faza luteală	0 – 20 mU.I./ml
FSH	
Femei: – faza foliculară	2 – 10 mU.I./ml
– vârf ovulatoriu	7 – 20 mU.I./ml
– faza luteală	2 – 10 mU.I./ml
– faza post-menopauză	20 – 100 mU.I./ml
Bărbați	2 – 10 mU.I./ml
TSH	0 – 5 µg/dl
CORTIZOL	
Dimineata	7 – 25 µg/dl
După-amiaza	2 – 9 µg/dl

Tabelul 4 (continuare)

PROLACTINA	
Femei	1 – 25 ng/dl
Bărbați	1 – 20 ng/dl
În sarcină valorile PRL cresc de 10 – 20 de ori comparativ cu valoarea fiziologic-normală	
T3	0,8 – 2,5 µg/dl
T4	5 – 12 µg/dl
TESTOSTERON	
Femei	0,1 – 1,2 ng/ml (0,3 – 4,2 nmoli/l)
Bărbați	2,4 – 12 ng/ml (8,3 – 41,6 nmoli/l)

* Cojocaru și colab., 1999.

Tabelul 5

Concentrația plasmatică a estradiolului la femei în diferite stări fiziologice

Perioada	Unități
Faza foliculară	66 – 120 pmoli/l (18 – 40 ng/l)
Faza preovulatorie	173 – 890 pmoli/l (45 – 250 ng/l)
Faza postovulatorie	96 – 545 pmoli/l (25 – 150 ng/l)
În timpul sarcinii	
–a 12-a săptămână	~10600 pmoli/l (~3000 ng/l)
–a 24-a săptămână	~93000 pmoli/l (~26000 ng/l)
–a 37-a săptămână	~129000 pmoli/l (~36000 ng/l)
Menopauză	50 – 80 pmoli/l (13 – 21 ng/l)

* Cojocaru și colab., 1999.

Tabelul 6

Concentrația plasmatică a progesteronei la femei în diferite stări fiziologice*

Perioada	Unități
Faza foliculară	630 – 5100 pmoli/l (0,2 – 1,6 ng/l)
Faza postovulatorie	31000 – 54000 pmoli/l (10 – 17 ng/l)
În timpul sarcinii	
–17 – 18 săptămâni	~95000 pmoli/l (~30 ng/l)
–28 – 30 săptămâni	~207000 pmoli/l (~65 ng/l)
–38 – 40 săptămâni	~382000 pmoli/l (~120 ng/l)

* Cojocaru și colab., 1999.

Tabelul 7

Viteza de biosinteză și concentrațiile
plasmatiche medii fiziologice normale ale unor hormoni steroidici*

Hormonul	Biosinteză ($\mu\text{g}/24\text{ h}$)	Concentrație plasmatică (ng/ml)
Aldosteron	100	0,07
Progesteronă: – faza proliferativă – faza secretorie	4200 42000	0,3–1,5 3 – 20
Testosteron: – bărbați: – femei:	7000 200	7 0,3
Androstendion: – bărbați: – femei:	2000 4000	1,2 1,6
Dehidroepiandrosteron	5000	5
Dehidroepiandrosteron sulfat	15000	1000
Estradiol: – faza proliferativă – 24 h după ovulație – faza secretorie	40 – 200	0,06 0,2 0,6
Estronă: – faza proliferativă – faza secretorie	60 120	0,06 0,1

* Cojocaru și colab., 1999.

Tabelul 8

Nivelul mediu al progesteronei plasmatiche și al pregnandiului urinar în timpul sarcinii***

Vârsta sarcinii	Progesteronă plasmatică (ng/l) *	Pregnandioli urinar ($\text{mg}/24\text{ ore}$) **
Faza luteală	17	–
4 săptămâni	20	5
10 săptămâni	26	7,5
14 săptămâni	41	11
18 săptămâni	45	17
22 săptămâni	50	28
26 săptămâni	60	32
30 săptămâni	80	42
34 săptămâni	100	50
38 săptămâni	120	60
40–42 săptămâni	160	80

* Dozare prin metode radioimunologice.

** Dozare prin cromatografie gazoasă.

*** Cojocaru și colab., 1999.

Tabelul 9

Nivelul mediu al estriolului plasmatic și urinar în timpul sarcinii*

Vârsta sarcinii	Estriol plasmatic (ng/ml)	Estriol urinar (mg/24 ore)
a 20-a săptămână	30	4
a 24-a săptămână	42	6
a 28-a săptămână	63	9
a 30-a săptămână	75	10
a 32-a săptămână	123	12
a 34-a săptămână	126	13
a 36-a săptămână	148	15
a 38-a săptămână	197	18
a 40-a săptămână	230	19

* Cojocaru și colab., 1999.

Tabelul 10

Nivelul mediu al principalilor metaboliți steroidici urinari**

Metabolitul	Bărbați	Femei
17-Cetosteroizi	9 – 17 mg/24 h	5 – 14 mg/24 h
Dihidroepiandrosteron	1 – 3 mg/24 h	0,5 – 2 mg/24 h
11-Hidroxi-17-cetosteroizi	1 – 3 mg/24 h	0,5 – 3 mg/24 h
Testosteron (glucuronoconjugat)	50 – 150 µg/24 h	10 – 30 µg/24 h
17-Hidroxisteroizi	8 – 15 mg/24 h	3 – 6 mg/24 h
Pregnantriol	1 – 2 mg/24 h	0,5 – 1,5 mg/24 h
Pregnandiol*	0,5 – 2 mg/24 h	f.p.: 0,5 – 1,5 mg/24h f.s.: 4 – 8 mg/24 h
Aldosteron (glucuronoconjugat)	5 – 15 µg/24 h	5 – 15 µg/24 h

* f.p. – faza proliferativă; f.s. – faza secretore a ciclului.

** Cojocaru și colab., 1999.

BIBLIOGRAFIE

- AAKVAAG, A., SAND, T., OPSTAD, P. K., FONNUM, F., 1978, Hormonal changes in serum in young men durring prolonged physical strain, in: *Eur. J. Appl. Physiol.*, vol. 39, pp. 283 – 291.
- ABABEL, L., TRANDAFIRESCU, M., 1974, *Biochimie, partea I – Vitamine hidrosolubile cu rol coenzimatic*, Centrul de Multiplicare al U.M.F. Iași.
- ABRAHAM, A. D., 1997, *Mecanismul de acțiune al hormonilor sterozi*, Ed. Did. și Ped., București.
- ADAMS, D. O., YANG, S. F., 1981, Ethylene, the gaseous plant hormone: mechanism and regulation of biosynthesis, in: *Trends in Biochem. Sciences*, vol. 6, pp. 161–164.
- ADDICOTT, F. F., LYON, J. L., 1969, Physiology of abscisic acid and related substances, in: *Ann. Rev. Plant Physiol.*, vol. 20, 139–164.
- AHMED, S., JOHNSON, C. S., RUEGER, R. M., TRUMP, D. L., 2002, Calcitriol (1,25-dihydroxycholecalciferol) potentiates activity of mitoxantrone/dexamethasone in an androgen independent prostate cancer model, in: *J. Urol.*, Vol. 168, N° 2, pp. 756 – 761.
- ALBANES, D., HEINONEN, O. P., HUTTUNEN, J. K., 1995, Effects of alphetocopherol and beta-carotene supplements on cancer incidence in the alpha-tocopherol beta-carotene cancer prevention study, in: *Am. J. Clin. Nutr.*, Vol. 62, N° 6, pp. 1427 – 1430.
- AMANO, Y., SAKAGAMI, H., TANAKA, T., 1998, Uncoupling of incorporation of ascorbic acid and apoptosis induction, in: *Anticancer Res.*, Vol. 18, N° 4A, pp. 2503 – 2506.
- ARTENIE, VL., 1991, *Biochimie*, Ed. Universității „Alexandru Ioan Cuza” Iași.
- AZUMA, N., KAMINOGAWA, S., KOBAYASHI, H., YAMAUCHI, K., 1982, Identification of a Calcium-Binding-Protein in Human Milk as α -Lactalbumin, in: *J. Dairy Sci.*, vol. 65, pp. 1401 – 1407.
- BALL, G. F. M., 1998, *Bioavailability and analysis of vitamins in foods*, Chapman and Hall, Londres.
- BARCLAY, B. J., KUNZ, B. A., LITTLE, J. G., HAYNES, R. H., 1982, Genetic and biochemical consequences of thymidylate stress, in: *Can J Biochem*, Vol. 60, pp. 172–184.
- BARRON, J. L., NAAKE, T. D., LEW, W., SMITH, C., MILLER, R. P., 1985, Hypotalamic dysfunction in overtrained athletes, in: *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 60, pp. 803 – 806.
- BATIEHA, A. M., ARMENIAN, H. K., NORKUS, E. P., 1993, Serum micronutrients and the subsequent risk of cervical cancer in a population-based nested case-control study, in: *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, Vol. 2, N° 4, pp. 335 – 339.
- BATT, S., VENIS, M. A., 1976, Separation and localization of two classes of auxin binding sites in corn coleoptile membranes, in: *Planta (Berlin)* vol. 130, pp. 15–21.

- BAULIEU, E. E., 1978, Hormones. Aspects fondamentaux et physio-pathologiques, Ed. Hermann, Paris.
- BEDELEANU, D. D., MANTA, I., 1985, Biochimie Medicală și Farmaceutică, Vol. I. Biochimie structurală, Ed. Dacia, Cluj-Napoca.
- BENDER, D. A., 1999, Optimum nutrition: thiamin, biotin and pantothenate, in: Proc. Nutr. Soc., vol. 58, N° 2, pp. 427 – 433.
- BENDICH, A., 1989, Safety of vitamin A, in: Am. J. Clin. Nutr., vol. 49, pp. 358 – 371.
- BERG, M. J., TYMOCZKO, J. L., STRYER, L., 2002, Biochemistry, W. H. Freeman, Hardback.
- BERNSTEIN, P. S., 1995, Photoaffinity labeling of retinoic acid-binding proteins, in: Proc. Natl. Acad. Sci., SUA, vol. 92, pp. 654 – 658.
- BERRINO, F., 2003, Modulation par la nutrition du métabolisme des hormones: prévention du cancer du sein, in: Médecine Nucléaire – Imagerie fonctionnelle et métabolique, vol. 27, N°1, pp. 25 – 29.
- BHATTI, R. A., ABLIN, R. J., GUINAN, P. D., 1981, Tumour-associated directed immunity in prostatic cancer: effect of amygdalin, in: IRCS Med Sci Biochem, Vol. 9, N° 1, p. 19.
- BIAGLOW, J. E., DURAND, R. E., 1978, The enhanced radiation response of an in vitro tumour model by cyanide released from hydrolysed amygdalin, in: Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med, Vol. 33, N° 4, pp. 397 – 401.
- BLEECKER, A.B., KENDE, H., 2000, Ethylene: a gaseous signal molecule in plants, in: Annu. Rev. Cell. Dev. Biol. Vol. 16, pp. 1–18.
- BOEYNAEMS, J.M., 1995, Un rôle physiologique des plasmalogènes: la protection contre le stress oxydatif et l'excès d'iode, in: Médecine Sciences, vol. II, pp. 254 – 259.
- BOIK, J., 2001, Natural Compounds in Cancer Therapy. Promising Nontoxic Antitumor Agents from Plants and Other Natural Sources, Oregon Medical Press, Princeton, SUA, ISBN 0-9648280-1-4.
- BORMAN, L. S., BRANDA, R. F., 1989, Nutritional folate deficiency in Chinese hamster ovary cells. I. Characterization of the pleiotropic response and its modulation by nucleic acid precursors, in: J Cell Physiol, Vol. 140, pp. 335–343.
- BOROS, L.G., BRANDES, J.L., LEE, W.N., 1998, Thiamine supplementation to cancer patients: a double edged sword, in: Anticancer Res., vol. 18, N° 1B., pp. 595 – 602.
- BORRELLI, FRANCESCA, 2005, Pregnancy Morning Sickness - Ginger as Effective as vitamin B6, in: Obstetrics & Gynecology, vol. 105, pp. 849 – 856.
- BOYONOSKI, A. C., SPRONCK, J. C., GALLACHER, L. M., 2002, Niacin deficiency decreases bone marrow poly(ADP-ribose) and the latency of ethylnitrosourea-induced carcinogenesis in rats, in: J. Nutr., vol. 132, N° 1, pp. 108 – 114.
- BOWIE, A. G., O'NEILL, L. A. J., 2000, Vitamin C inhibits NF- κ B activation by TNF via the activation of p38 mitogen-activated protein kinase, in: J. Immunol., Vol. 165, pp. 7180 – 7188.
- BRANDA, R. F., HACKER, M., LAFAYETTE, A., NIGELS, E., SULLIVAN, L., NICKLAS, J. A., O'NEILL, J. P., 1998, Nutritional folate deficiency augments the in vivo mutagenic and lymphocytotoxic activities of alkylating agents, in: Environ Mol Mutagen, Vol. 32, pp. 33–38.
- BRANDA, R. F., McCORMACK, J. J., PERLMUTTER, C. A., MATHEWS, L. A., ROBISON, S. H., 1988, Effects of folate deficiency on the metastatic potential of murine melanoma cells, in: Cancer Res, Vol. 48, pp. 4529–4534.

- BRIAN, A., ROBERTON, O., 1993, Vitamin fortification of foods (specific applications), in *The Technology of Vitamins in Food*, Blackie Academic & Professional, Glasgow, pp. 114 – 142.
- BRIGELIUS-FLOHE, R., KELLY, F. J., SALONEN, J. T., NEUZIL, J., ZINGG, J. M., AZZI, A., 2002, The European perspective on vitamin E: current knowledge and future research, in: *Am. J. Clin. Nutr.*, Vol. 76, pp. 703 – 716.
- BRODY, T., 1994, *Nutritional Biochemistry*, Acad. Press, Inc., San Diego, California.
- BROTTO, L. A., GORZALKA, B. B., 2000, Melatonin enhances sexual behavior in the male rat, in: *Physiol. Behav.*, vol. 68, pp. 483 – 486.
- BROWN, B. G., CHEUNG, M. C., LEE, A. C., ZHAO, X. Q., CHAIT, A., 2002, Antioxidant vitamins and lipid therapy: end of a longromance? in: *Arteriol. Thromb.Vasc. Biol.*, vol. 22, N° 10, pp. 1535 – 1546.
- BROWN, B. G., ZHAO, X. Q., CHAIT, A., 2001, Simvastatin and niacin, antioxidant vitamins, or the combination for the prevention of coronary disease, in: *N. Engl. J. Med.*, vol. 345, N° 22, pp. 1583 – 1592.
- BROWN, R. R., OZAKI, Y., DATTA, S. P., BORDEN, E. C., SONDEL, P. M., MALONE, D. G., 1991, Implications of interferon-induced tryptophan catabolism in cancer, autoimmune diseases and AIDS, in: *Adv. Exp. Med. Biol.*, vol. 294, pp. 425 – 435.
- BQRENSTEIN, B., 1987, The role of ascorbic acid in foods, *Food Technol.*, vol. 41, N° 11, pp. 98 – 99.
- CAMERON, E., 1991, Protocol for the use of vitamin C in the treatment of cancer, in: *Med. Hypotheses*, Vol. 36, N° 3, pp. 190 – 194.
- CAMPBELL, N. R. C., 1996, How safe are folic acid supplements? in: *Arch Intern Med.*, Vol. 156, pp. 1638–1644.
- CANNER, P. L., BERGE, K. G., WENGER, N. K., 1986, Fifteen year mortality in Coronary Drug Project patients: long-term benefit with niacin, in: *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 8, N° 6, pp. 1245 – 1255.
- CATHCART, R., 1981, Vitamin C Titration to Bowel Tolerance, Anascorbemia and Acute Induced Scurvy, in: *Medical Hypotheses*, vol. 7, pp. 1359 – 1376.
- CERVANTES-LAURERAN, D., McELVANEY, N. G., MOSS, J., 1999, *Modern Nutrition in Health and Disease*, 9th ed., Baltimore, pp. 401 – 411.
- CHANDLER, R. F., ANDERSON, L. A., PHILLIPSON, J. D., 1984, Laetrile in perspective, in: *Can Pharm J.*, Vol. 117, N° 11, pp. 517 – 520.
- CHAOULOFF, F., 1990, Effects of exercise on central serotoninergic metabolism, in: *Nutrition et Sport*, Masson et C-ie, pp. 76 – 80.
- CHAOULOFF, F., 1991, Cerebral monoamines and fatigue, in: *la fatigue musculaire*, Masson et C-ie, pp. 235 – 239.
- CHEUNG, M. C., ZHAO, X. Q., CHAIT, A., ALBERS, J. J., BROWN, B. G., 2001, Antioxidants supplements block the response of HDL to simvastatin-niacin therapy in patients with coronary artery disease and low HDL, in: *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 21, N° 8, pp. 1320 – 1326.
- CLYDESTALE, F. M., HO, C. T., LEE, C. Y., MONDI, N., 1991, The effects of postharvest treatment and chemical interactions on the bioavailability of ascorbic acid, thiamin, vitamin A, carotenoids and minerals, in: *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 30, N° 6, pp. 599 – 638.
- COJOCARU, D. C., MARIN, E., ARTENIE, VL., COMĂNESCU, ȘT., 1986, Implicarea adenozintrifosfatazei și fosfomonoesterazelor în metabolismul energetic al unei

- tulpini producătoare de riboflavină, în: Microbiologie Industrială și Biotehnologie, Iași, vol. V, pp. 231 – 234.
- COJOCARU, D. C., CIORNEA, ELENA, COJOCARU, DOINA-IRINA, 2000, Biochimia vitaminelor și hormonilor. Lucrări practice, Ed. Corson, Iași.
- COJOCARU, D. C., 1996, Biochimia vitaminelor, Ed. Gama, Iași.
- COJOCARU, D.C., COJOCARU, DOINA-IRINA, CIORNEA, ELENA, 1999, Biochimia hormonilor, Ed. Corson, Iași.
- COLDITZ, G. A., BRANCH, L. G., LIPNICK, R. J., WILLETT, W. C., ROSNER, B., POSNER, B. M., HENNEKENS, C. H., 1985, Increased green and yellow vegetable intake and lowered cancer deaths in an elderly population, in: Am. J. Clin. Nutr., Vol. 41, pp. 32 – 36.
- COMIN-ANDRUIX, B., BOREN, J., MARTINEZ, S., 2001, The effect of thiamine supplementation on tumour proliferation. A metabolic control analysis study, Eur. J. Biochem., vol. 268, N° 15., pp. 4177 – 4182.
- COMSTOCK, G., 1991, Prediagnostic serum levels of carotenoids and vitamin E as related to subsequent cancer in Washington County, Maryland, in: Am. J. Clin. Nutr., Vol. 53, pp. 260 – 264.
- COULTATE, T. P., 2009, Food: The Chemistry of Its Components, *RSC Paperbacks Series*, Royal Society of Chemistry.
- COUNSELL, J. N., 1993, Vitamins as food additives, in: The Technology of Vitamins in Food, Blackie Academic & Professional, Glasgow, pp. 19 – 41.
- COWLEY, J. J., BROOKSBANK, B. W., 1991, Human exposure to putative pheromones and changes in aspects of social behavior, in: J. Steroid Biochem. Molec. Biol., vol. 39/4B, pp. 647 – 659.
- CUEZENNEC, C. Y., 1990, Données récentes sur l'influence de l'exercice physique sur le métabolisme protéique. Implications nutritionnelles et rôle des hormones, in: Science et Sports, vol. 4, pp. 281 – 291.
- CURRAN, W. J., 1980, Law-medicine notes. Laetrile for the terminally ill: Supreme Court stops the nonsense, in: N Engl J Med., Vol. 302, N° 11, pp. 619–621.
- CURT, G. A., 1990 - Unsound methods of cancer treatment, in: Princ Pract Oncol Updates, Vol. 4, N° 12, pp. 1 – 10.
- CURRY, D. L., BENNETT, L. L., 1973, Dynamics of Insulin Release by Perfused Rate Pancreas: Effects of Hypophysectomy, Growth Hormone, Adrenocorticotrophic Hormone and Hydrocortisone in: Endocrinology, vol. 93, p. 602.
- DAN, V., BAHRIM, G., NICOLAU, A., 1992, Influența condițiilor de cultivare asupra biosintezei pigmentilor carotenoidici de către mușegaiuri selecționate, în: Microbiologie Industrială și Biotehnologie, vol. VII, Iași, pp. 365 – 368.
- DAVIES, M. B., AUSTIN, J., PARTRIDGE, D. A., 1991, Vitamin C: Its Chemistry and Biochemistry, Royal Society of Chemistry.
- DECIMO, D., MARK, M., 1980, Retinoides et bases moléculaires des malformations cardiaques congénitales, in Medicine Sciences, vol. 11, pp. 132 – 133.
- DESSYPRIS, A., KUOPPASALMI, K., ADLERCREUTZ, H., 1976, Plasma cortisol, testosterone, androstenedione and luteinizing hormone in a non competitive marathon run, in: J. Ster. Biochem., vol. 7, pp. 33 – 37.
- DÖRFFLING, K., TIETZ, D., 1985, Absciscic acid in leaf epidermis of *Commelina communis* L.: Distribution and correlation with stomatal closure, in: J. Plant Physiol. Vol. 117, pp. 297–305.

- DORR, R. T., PAXINOS, J., 1978, The current status of laetirile, in: Ann Intern Med, Vol. 89, N° 3, pp. 389 – 397.
- DUMITRU, I. F., 1980, Biochimie, Ed. Didactică și Pedagogică, București.
- DUMITRU, I. F., 1970, Vitamine. Chimie, biochimie și fiziologie, Centrul de Multiplicare al Universității București.
- DURIEZ, P., FRUCHART, L. C., 1993, Vitamine E et atherosclerose, in: Med. et Nut., Tom XXIX, pp. 17 – 19.
- EBBEN, M., LEQUERICA, A., SPIELMAN, A., 2002, Effects of pyridoxine on dreaming: a preliminary study, Perceptual & Motor Skills, vol. 94, N° 1, pp. 135 – 140.
- ELLIOT, J. G., 1999, Application of antioxidant vitamins in foods and beverages, Food Technol., vol. 53, N° 2, pp. 46 – 50.
- ELLISON, N. M., 1980, Unproven methods of cancer therapy, in: Drug Ther (NY) 10(July), pp. 73 – 82.
- ENESCU, L., 1970, Farmacologie veterinară, Ed. Didactică și Pedagogică, București.
- ENESCU, L., 1978, Biochimie Medicală, Vol. I și II, Litografia U.M.F. Iași.
- ENESCU, L., BAZGAN, L., 1978, Biocatalizatori, Litografia U.M.F. Iași.
- ENESCU, L., OIȚĂ, N. N., 1990, Bazele vitaminoterapiei, Vol. I, Ed. Junimea, Iași.
- ERDMAN, J. W., PEOR, C., 1998, Factors affecting the bioavailability of vitamin A, carotenoids and vitamin E, in: Food Technol., vol. 42, N° 10, pp. 214 – 225.
- FANG, H., TONG, W., SHI, L. M., BLAIR, R., PERKINS, R., BRANHAM, W., HASS, B. S., XIE, Q., DILA, S. L., MOLAND, C. L., SHEEHAN, D. M., 2001, Structure – activity relationship for a large diverse set of natural, synthetic and environmental estrogens, in: Chemical Research in Toxicology, vol. 14, pp. 280 – 294.
- FAROOQI, I. S., WANGENSTEEN, T., COLLINS, S., KIMBER, W., MATARESE, G., KEOGH, J. M., LANK, E., BOTTOMLEY, B., 2007, Clinical and molecular genetic spectrum of congenital deficiency of leptin receptor, in: New Eng. J. Med., vol. 356, pp. 237 – 247.
- FEIZ, H. R., MOBARHAN. S., 2002, Does vitamin C intake slow the progression of gastric cancer in *Helicobacter pylori*-infected populations?, in: Nutr. Rev., Vol. 60, pp. 34 – 36.
- FENSELAU, C., PALLANTE, S., BATZINGER, R. P., 1977, Mandelonitrile beta-glucuronide: synthesis and characterization, in: Science, Vol. 198, N° 4317, pp. 625–627.
- FIGUEIREDO, JANE, C., GRAU, MARIA, V., HAILE, R.W., SANDLER, R.S., SUMMERTS, R.W., BRESALIER, R.S., BURKE, C.A., MCKEOWN-EYSEN, G.E., BARON, J.A., 2009, Folic Acid and Risk of Prostate Cancer: Results From a Randomized Clinical Trial, in: J. Natl. Cancer Instit., Vol. 101, N° 6, pp. 432 – 435.
- FILARDO, E. J., THOMAS, P., 2005, GPR30: a seven-transmembrane-spanning estrogenreceptor that triggers EGF release, in: Trends in Endocrinology and Metabolism, vol. 16, N° 8, pp. 362 – 367.
- FLEISHER, A., 1980, Enzyme manipulation by specific megavitamin therapy, Birth Defects, vol. 16, pp. 239 – 267.
- FOIDART, A., LEGROS, J. J., BALTHAZART, J., 1994, Les phéromones humaines: vestige animal ou réalité non reconnue, in: Revue médicale de Liège, vol. 49, N° 12, pp. 662 – 680.
- FOURNIER, A., 1985, Vitamine D: son métabolisme et ses propriétés biologiques, in: Ann. Med. Interne, Masson, Paris, Vol. 136, Nr. 2, pp. 154 – 163.

- FRANCESCHI, S., BIDOLI, E., NEGRI, E., 2000, Role of macronutrients, vitamins and minerals in the aetiology of squamous-cell carcinoma of the oesophagus, in: *Int. J. Cancer.*, vol. 86, N° 5, pp. 626 – 631.
- FREEMAN, S., 2004, *Biological Science*. Prentice Hall; 2nd Pkg edition.
- GARLAND, C. F., GARLAND, F. C., GORHAM, E. D., 1999, Calcium and vitamin D. Their potential roles in colon and breast cancer prevention, in: *Ann. NY Acad. Sci.*, Vol. 889, pp. 107 – 119.
- GARLAND, F. C., GARLAND, C. F., GORHAM, E. D., YOUNG, J. F., 1990, Geographic variation in breast cancer mortality in the United States: a hypothesis involving exposure to solar radiation, in: *Prev. Med.*, Vol. 19, N° 6, pp. 614 – 622.
- GASCON-BARRE, M., 1977, La vitamine D. Influence des médicaments anticonvulsivants sur son métabolisme, in: *L'Union Médicale du Canada*, Tom 106, pp. 636 – 643.
- GEWIRTZ, D. A., GUPTA, M. S., SUNDARAM, S., 2002, Vitamin D3 and vitamin D3 analogues as an adjunct to cancer chemotherapy and radiotherapy, in: *Curr. Med. Chem. Anti-Cancer Agents*, Vol. 2, N° 6, pp. 683 – 690.
- GENSLER, H. L., WILLIAMS, T., HUANG, A. C., JACOBSON, E. L., 1999, Oral niacin prevents photocarcinogenesis and photoimmuno-suppression in mice, in: *Nutr. Cancer.*, vol. 34, N° 1, pp. 36 – 41.
- GHEORGHIADE, M., GATTIS, W. A., O'CONNOR, C. M., ADAMS, K. F., ELKAYAMM U., BARBAGELATA, A., BENZA, R. L., MCGREW, F. A., KLAPHOLZ, M., ORLANDI, C., 2004, Effects of tolvaptan, a vasopressin antagonist, in patients hospitalized with worsening heart failure, in: *JAMA*, vol. 291, pp. 1963 – 1971.
- GIAMMANCO, M., TABACCHI, G., GIAMMANCO, S., DI MAJO, D., LA GUARDIA, M., 2005, Testosterone and aggressiveness, in: *Endocrinology*, vol. 11, p. 4259.
- GIOVANNUCCI, E., RIMM, E. B., ASCHERIO, A., STAMPFER, M. J., COLDITZ, G. A., WILLETT, W. C., 1995, Alcohol, low-methionine-low-folate diets, and risk of colon cancer in men, in: *J Natl Cancer Inst.* Vol. 87, pp. 265–273.
- GIOVANNUCCI, E., STAMPFER, M. J., COLDITZ, G. A., HUNTER, D. J., FUCHS, C., ROSNER, B. A., SPEIZER, F.E., WILLETT, W. C., 1998, Multivitamin use, folate, and colon cancer in women in the nurses' health study, in: *Ann Intern Med.* Vol. 129, pp. 517–524.
- GLYNN, S. A., ALBANES, D., 1994, Folate and cancer: a review of the literature, in: *Nutr. Cancer*, Vol. 22, N° 2, pp. 101 – 119.
- GOSTOMSKI, F. E., 1978, The effects of amygdalin on the Krebs-2 carcinoma and adult and fetal DUB(ICR) mice, in: *Diss Abstr Int B*, Vol. 39, N° 5, pp. 2075-B.
- GREENBERG, D. M., 1980, The case against laetrile: the fraudulent cancer remedy, in: *Cancer* 45, N° 4, pp. 799 – 807.
- GUERN, J., C. PEAUD-LENOEL (eds.), 1981, *Metabolism and molecular activities of cytokinins*. Berlin-Heidelberg-New York: Springer Verlag.
- GUYTON, J. R., CAPUZZI, D. M., 1998, Treatment of hyperlipidemia with combined niacin-statin regimens, in: *Am. J. Cardiol.*, vol. 82, N° 12A, pp. 82U – 86U.
- GREENBAUM, C. J., KAHN, S. E., PALMER, J. P., 1996, Nicotinamide's effects on glucose metabolism in subjects at risk for IDDM, in: *Diabetes*, vol. 45, N° 11, pp. 1631 – 1634.
- GREENOUGH, A., COLE, G., LEWIS, J., LOCKTON, A., BLUNDELL, J., 1998, Untangling the effects of hunger, anxiety and nausea on energy intake during

- intravenous cholecystokinin octapeptide (CCK-8) infusion, in: *Physiol. Behav.*, vol. 65, N° 2, pp. 303 – 310.
- GREEVES, C., WOTHERS, W., 2001, *Organic Chemistry*, Oxford University Press.
- GREGORY, J. F., 1996, Vitamins, in: *Food Chemistry*, Ed. Marcel Dekker, New York, pp. 531 – 616.
- GREGORY, J. F., 1998, Nutritional Properties and significance of vitamin glycozides, in: *Annu. Rev. Nutr.*, vol. 18, pp. 277 – 296.
- HAGEMAN, G. J., STIERUM, R. H., 1998, Nicotinic acid supplementation: effects on niacin status, cytogenetic damage and poly(ADP-ribosylation) in lymphocytes of smokers, in: *Nutr. Cancer*, vol. 32, N° 2, pp. 113 – 120.
- HAGEMAN, G. J., STIERUM, R. H., 2001, Niacin, poly(ADP-ribose) polymerase-1 and genomic stability, in: *Mutat. Res.*, vol. 475, N° 1–2, pp. 45 – 56.
- HAMBRAEUS, L., 1984, Human milk composition, in: *Reviews in Clinical Nutrition*, John Wiley & Sons Ltd. and Commonwealth Agriculture Bureaux, vol. 54, N° 4, pp. 220 – 236.
- HAN, J., HANKINSON, S. E., ZHANG, S.M., DE VIVO, I., HUNTER, D. J., 2004, Interaction between genetic variations in DNA repair genes and plasma folate on breast cancer risk, in: *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, Vol. 13, pp. 520–524.
- HARAKEH, S., JRIWALLA, R., PAULING, L., 1990, Suppression of human immunodeficiency virus replication by ascorbate in chronically and acutely infected cells, in: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 87, N° 18, pp. 7245 – 7249.
- HARAKEH, S., JRIWALLA, R., 1991, Comparative study of the anti-HIV activities of ascorbate and thiol-containing reducing agents in chronically HIV-infected cells, in: *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 54, N° 6 Suppl., pp. 1231S – 1235S.
- HARAKEH, S., JRIWALLA, R., 1997, NF-kappa B-independent suppression of HIV expression by ascorbic acid, in: *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, vol. 13, N° 3, pp. 235 – 239.
- HAU, L., BRAVATA, D.M., OLKIN, I., NAYAK, S., ROBERTS, B., GARBER, A. M., HOFFMAN, A. R., 2007, The Safety and Efficacy of Growth Hormone, in: *Ann. Intern. Med.*, vol. 146, pp. 104 – 115.
- HAWKES, J. G. Y., VILLOTA, R., 1989, Folate in foods: reactivity, stability during processing and nutritional implications, in: *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 28, N° 6, pp. 439 – 538.
- HEBB, A. L., POULIN, J. F., ROACH, S. P., ZACHARKO, R. M., DROLET, G., 2005, Cholecystokinin and endogenous opioid peptides: interactive influence on pain, cognition and emotion, in: *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, vol. 29, N° 8, pp. 1225 – 1238.
- HEFCO, V., 1997, *Fiziologia animalelor și a omului*, Ed. Did și Ped., București.
- HENNEKENS, C. H., BURING, J. E., MANSON, J. E., STAMPFE, M., COOK, N. R., BELANGER, C., LAMOTTE, F., GAZIANO, J. M., RIDKER, P. M., WILLETT, W., PETO, R., 1996, Lack of effect of long-term supplementation with beta carotene on the incidence of malignant neoplasm and cardiovascular disease, in: *N. Eng. J. Med.*, vol. 334, pp. 1145 – 1149.
- HEROUX, M., RAGHAVENDRA, RAO, V. L., LAVOE, J., RICHARDSON, J. S., BUTTERWORTH, R. F., 1996, Alterations of thiamine phosphorylation and of thiamine-dependent enzymes in Alzheimer's disease, in: *Metab. Brain Dis.*, vol. 11, N° 1, pp. 81 – 88.

- HERTEL, R., K. THOMSON, V. E., RUSSO, A., 1972, *In vitro* auxin binding to particulate cell fractions from corn coleoptiles, in: *Planta* (Berlin) vol. 107, pp. 325–340.
- HERTEL, R., LOMAX, T. L., BRIGGS, W. R., 1983, Auxin transport in membrane vesicles from *Cucurbita pepo* L., in: *Planta* (Berlin) vol. 157, pp. 193–201.
- HOLICK, M. F., 1994, Vitamin D: New horizons for the 21st century, in: *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 60, pp. 619–630.
- HOUK, J. C.; SHARMA, V. K.; PATEL, Y. M.; GLADNER, J. A., 1968, Induction of Collagenolytic and Proteolytic Activities by Anti Inflammatory Drugs in the Skin and Fibroblasts, in: *Biochemical Pharmacology*, vol. 17, p. 2081
- HOWARD-RUBEN, J., MILLER, N. J., 1984, Unproven methods of cancer management. Part II: Current trends and implications for patient care, in: *Oncol Nurs Forum*, Vol. 11, N° 1, pp. 67–73.
- HULME, E. C., 1990, *Receptor-Effector Coupling*, Oxford University Press.
- HUANG, J., DAVID, B. A., WINFREE, C. J., MACK, W. J., TANVIR, F. C., KIM, L. J., 2001, Dehydroascorbic acid, a blood-brain barrier transportable form of vitamin C mediates potent cerebroprotection in experimental stroke, in: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 98(20), pp. 11720–11724.
- HUNG, S. C., HUNG, S. H., TARNG, D.C., YANG, W. C., CHEN, T. W., HUANG, T. P., 2001, Thiamine deficiency and unexplained encephalopathy in hemodialysis and peritoneal dialysis patients, in: *Am. J. Kidney Dis*, vol. 38, N° 5, pp. 941–947.
- HUSBAN, A. J., BRANDON, M. R., DASCELLES, A. K., 1973, The Effect of Corticosteroid on Absorption and Endogenous Production of Immunoglobulins in Calves, in: *Aust. Journal of Exp. Biol. Med. Sci.*, vol. 55, p. 707.
- IDELMAN, S., 1990, *Endocrinologie, Fondements Physiologiques*, Presses Universitaires de Grenoble.
- IKAN, R., 1991, *Natural products*, Second Edition, Acad. Press Inc., San Diego, California.
- JACOBSON, M. K., JACOBSON, E. L., 1999, Discovering new ADP-ribose polymer cycles: protecting the genome and more, in: *Trends Biochem. Sci.*, vol. 24, N° 11, pp. 415–417.
- JACOBSON, E. L., JACOBSON, M. K., 1997, Tissue NAD as a biochemical measure of niacin status in human, in: *Methods Enzymol.*, vol. 280, pp. 221–230.
- JACOBSON, E. L., SHIEH, W. M., HUANG, A. C., 1999, Mapping the role of NAD metabolism in prevention and treatment of carcinogenesis, in: *Mol. Cell. Biochem.*, vol. 193, N° 1–2, pp. 69–74.
- JACOBSON, E. L., 1993, Niacin deficiency and cancer in women, in: *J. Am. Coll. Nutr.*, vol. 12, N° 4, pp. 412–416.
- JAVOBS, W. P., 1979, *Plant hormones and plant development*. Cambridge: University Press, 1979.
- JENSEN, C., LAURIDSEN, C., BERTELSEN, G., 1998, Dietary vitamin E: Quality and storage stability of pork and poultry, in: *Trends in Food Sci. and Technol.*, vol. 9, N° 2, pp. 62–73.
- KASHYAP, M. L., MCGOVERN, M. E., BERRA, K., 2002, Long-term safety and efficacy of a once-daily niacin/lovastatin formulation for patients with dyslipidemia, in: *Am. J. Cardiol.*, vol. 89, N° 6, pp. 672–678.
- KAUSHANSKI, K., 2006, Lineage-Specific Hematopoietic Growth Factors, in: *New Eng. J. Med.*, vol. 354, pp. 2034–2045.

- KIM, Y. I., 1999, Folate and carcinogenesis: evidence, mechanisms, and implications, in: J Nutr Biochem, Vol. 10, pp. 66–88.
- KISH, S. J., 1997, Brain energy metabolizing enzymes in Alzheimer's disease: alpha-ketoglutarate dehydrogenase complex and cytochrome oxidase, in: Ann. N. Y. Acad. Sci., vol. 826, pp. 218 – 228.
- KITTS, O. O., 1997, An evaluation of the multiple effects of the antioxidants vitamins. Trends in Food Sci. and Technol., vol. 8, N° 6, pp. 198 – 204.
- KNOPP, R. H., 1999, Drug treatment of lipid disorders, in: N. Engl. J. Med., vol. 341, N° 7, pp. 498 – 511.
- KNOPP, R. H., 2000, Evaluating niacin in its various forms, in: Am. J. Cardiol., vol. 86, N° 12A, pp. 51L – 56L.
- KOCHI, M., ISONO, N., NIWAYAMA, M., 1985, Antitumor activity of a benzaldehyde derivative, in: Cancer Treat Rep., Vol. 69, N° 5, pp. 533–537.
- KOKSHCHUK, G. I., PAKHMURHYI, B. A., 1979, Role of Glucocorticoids in Regulation of the Acid-Excreting Function of the Kidneys. in: Fiziol. Zh. SSR I.M.I.M. Sechenova, vol. 65, p. 751.
- KOLOTILOVA, A. I., GLUSHANKOV, A. I., GLUSHANKOV, E. P., 1976, Vitamini. Himia, biokhimia i fiziologicheskaia rol', Izd-vo Leningradskovo Universiteta
- KOSHIISHI, I., IMANARI, T., 1997, Measurement of ascorbate and dehydroascorbate contents in biological fluids, in: Anal. Chem., Vol. 69, N° 2, pp. 216 – 220.
- KOZIN, S. V., SHKARIN, P., GERWECK, L. E., 2001, The cell transmembrane pH gradient in tumors enhances cytotoxicity of specific weak acid chemotherapeutics, in: Cancer Res., Vol. 61, pp. 4740 – 4743.
- KREBS, E. T. JR., KREBS, E. T. SR., BEARD, H. H., 1950, The unitarian or trophoblastic thesis of cancer, in: Med Rec., Vol. 163, N° 7, pp. 149 – 174.
- KRISHNA, S., TAYLOR, A. M., SUPANARANOND, W., 1999, Thiamine deficiency and malaria in adults from southeast Asia, Lancet., vol. 353, N° 9, pp. 546 – 549.
- LARDY, H., SHRAGO, E., 1990, Biochemical aspects of obesity, in: Ann. Rev. Biochem., Palo Alto, California, vol. 59, pp. 689–710.
- LASHNER, B. A., HEIDENREICH, P.A., SU, G. L., KANE, S. V., HANAUER, S. B., 1989, Effect of folate supplementation on the incidence of dysplasia and cancer in chronic ulcerative colitis. A case-control study, in: Gastroenterology, Vol. 97, pp. 255–259.
- LEHNINGER, A. L., 1972, Biochemistry. The molecular basis of Cell structure and Function, Worth Publisher Inc., New York.
- LE MARCHAND, L., HANKIN, J. H., KOLONEL, L. N., BEECHER, G. R., WILKENS, L. R., ZHAO, L. P., 1993, Intake of specific carotenoids and lung cancer risk, in: Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev., Vol. 2, pp. 183 – 187.
- LERNER, I. J., 1981, Laetrile: a lesson in cancer quackery, in: CA Cancer J Clin, Vol. 31, N° 2, pp. 91–95.
- LERNER, I. J., 1984, The whys of cancer quackery, in: Cancer 53 (3 Suppl), pp. 815 – 819.
- LESLIE, D., GHEORGHIAD, M., 1996, Is there a role for thimine supplementation in the management of heart failure?, in: Am. Heart J., vol. 131, N° 6, pp. 1248 – 1250.
- LEWY, A. J., EMENS, J. S., SACK, R. L., HASLER, B. P., BERNERT, R. A., 2002, Low, but not high, doses of melatonin entrained a free-running blind person with a long circadian period, in: Chronobiol. Int., vol. 19, pp. 649 – 658.

- LIAO, M., SEIB, Y. P. A., 1987, Selected reactions of L-ascorbic acid related to food, Food Technol., vol. 41, N° 11, pp. 104 – 108.
- MAJEWSKI, S., MARCZAK, M., SZMURLO, A., 1995, Retinoids, interferon alpha, 1,25-dihydroxyvitamin D3 and their combination inhibit angiogenesis induced by non-HPVharboring tumor cell lines. RAR alpha mediates the antiangiogenic effect of retinoids, in: Cancer Lett., Vol. 89, N° 1, pp. 117 – 124.
- MANNER, H. W., DISANTI, S. J., MAGGIO, M. I., 1978, Amygdalin, vitamin A and enzyme induced regression of murine mammary adenocarcinomas, in: J Manipulative Physiol Ther, Vol.1, N° 4, pp. 246–248.
- MAYNE, S. T., GRAHAM, S., ZHENG, T. Z., 1991, Dietary retinol: Prevention or promotion of carcinogenesis in humans?, in: Cancer Causes Control, Vol. 2, N° 6, pp. 443 – 450.
- MAIWORM, R. E., 1990, Influence of androstenone, androstenol, menstrual cycle and oral contraceptive son the attractivity rating of female probands, paper presented at the Ninth Congress of ECRO.
- MARIN, E., COJOCARU, D. C., TOPALĂ, N. D., 1986, Dinamica sintezei riboflavinei la *Torulopsis candida* M1 cultivat pe diferite medii de cultură, în Microbiologie Industrială și Biotehnologie, Iași, vol. V, pp. 231 – 234.
- MARIN, E., OLTEANU, Z., COMĂNESCU, ȘT. COJOCARU, D. C., 1994, Effect of some Oligoelements Concentration on the Biosynthesis of Riboflavin at *Torulopsis candida* M1, in: An. Șt. Univ. „Alexandru Ioan Cuza” Iași, s. II a, Biologie, Tom 40, pp. 129 – 132.
- MARIN, E., AILIESEI, O., OLTEANU, Z., COMĂNESCU, ȘT. COJOCARU, D. C., 1994, Corelation between the growth and the synthesis of riboflavine with *Torulopsis candida* M1, in: Proceeding of the 8th National Symposium Microbiology and Biotechnology, Bucharest, pp. 334 – 337.
- MASTROGIACOMA, F., BETTENDORFF, L., GRISAR, T., KISH, S. J., 1996, Brain thiamine, its phosphate esters, and its metabolizing enzymes in Alzheimer's disease, in: Ann. Neurol., vol. 39, N° 5, pp. 585 – 591.
- McKENNEY, J., 2004, New Perspective on the use of niacin in the treatment of lipid disorders, in: Arch. Intern. Med., vol. 164, N° 7, pp. 697 – 705.
- MEADOR, K., LORING, D., NICHOLS, M., 1993, Preliminary findings of high-dose thiamine in dementia of Alzheimer's type, in: J. Geriatr. Psychiatry. Neurol., vol. 6, N° 4, pp. 222 – 229.
- MÉTRAUX, J. P., KENDE, H., 1983, The role of ethylene in the growth response of submerged deep water rice, in: Plant Physiol. vol. 72, pp. 441–446.
- METZLER, D.E., 1977, Biochemistry. The chemical reactions of living cells, Acad. Press, Inc., New York, Vol. III.
- MILTON, K., 2003, Micronutrient intakes of wild primates: are human different? in: Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol., vol. 136, N° 1, pp. 47 – 59.
- MIMORI, Y., KATSUOKA, H., NAKAMURA, S., 1996, Thiamine therapy in Alzheimer's disease, in: Metab. Brain. Dis., vol. 11, N° 1, pp. 89 – 94.
- MOERTEL, C. G., FLEMING, T. R., RUBIN, J., 1982, A clinical trial of amygdalin (Lactrile) in the treatment of human cancer, in: N Engl J Med., Vol. 306, N° 4, pp. 201–206.
- MOORE, T. C., 1979, Biochemistry and physiology of plant hormones. New York-Heidelberg-Berlin: Springer Verlag.

- MUNGER, K. L., LEVIN, L. I., HOLLIS, B. W., HOWARD, N. S., ASCHERIO, A., 2006, Serum 25-Hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis, in: JAMA, vol. 296, pp. 2832 – 2838.
- MUNNICH, A., OGIER, H., SAUDUBRAY, J. L., 1987, Les vitamines. Aspects metaboliques, genetiques, nutritionnelles et therapeutiques, Masson, Paris.
- MURAKOSHI, M., NISHINO, H., SATOMI, Y., TAKAYASU, J., HASEGAWA, T., TOKUDA, H., IWASHIMA, A., OKUZUMI, J., OKABE, H., KITANO, H., IWASAKI, R., 1992, Potent preventive action of alpha-carotene against carcinogenesis: spontaneous liver carcinogenesis and promoting stage of lung and skin carcinogenesis in mice are suppressed more effectively by alpha-carotene than by beta-carotene, in: Cancer Res., Vol. 52, pp. 6583 – 6587.
- MURRAY, M. F., LANGAN, M., MacGREGOR, R. R., 2001, Increased plasma tryptophan in HIV-infected patient treated with pharmacologic doses of nicotinamide, in: Nutrition, vol. 17, N° 7–8, pp. 654 – 656.
- MURI, R. M., VON OVERBECK, J., FURRER, J., BALLMER, P. E., 1999, Thiamin deficiency in HIV – positive patients: evaluation by erythrocyte transketolase activity and thiamin pyrophosphate effect, in: Clin. Nutr., vol. 18, N° 6, pp. 375 – 378.
- NAGASAWA, K., MITAMURA, T., SAKAMOTO, S., YAMAMOTO, K., 1995, Effects of lycopene on spontaneous tumour development in SHN virgin mice, in: Anticancer Res., Vol. 15, pp. 1173 – 1178.
- NAPOLI, J. L., HOYOKU N., MURAKOSHI, M., XIAO-YANG, M., SAERI, WADA, MASUDA, M., OHSAKA, Y., SATOMI, Y., JINNO, K., SUNDARAM, S., GEWIRTZ, D., NEUZIL, J., XIU-FANG, WANG, ZHAO, Y., WU, K., LEE, K. W., LEE, H. J., LEE, C. Y., MCGUIRE, J. J., 2006, Nutrition and Cancer Prevention, Ed. Taylor and Francis Group, Boca Raton, SUA.
- NEAMȚU, G., 1981, Biochimie vegetală, Ed. Ceres, București.
- NEGRI, E., FRANCESCHI, S., BOSETTI, C., 2000, Selected micronutrients and oral and pharyngeal cancer, in: Int. J. Cancer, vol. 86, N° 1, pp. 122 – 127.
- NGUYEN, G., DELARUE, F., BURCKLE, C., 2002, Pivotal role of the renin/pro-renin receptor in angiotensin II production and cellular responses to renin, in: J. Clin. Invest., vol. 109, pp. 1417–1427.
- NICKELL, L. G., 1982, Plant growth regulators. Agricultural uses. Berlin-Heidelberg-New York: Springer Verlag.
- NISHIMUNE, T., WATANABE, Y., OKAZAKI, H., ACAY, H., 2000, Thiamin is decomposed due to Anopheles spp. Entomophagy in seasonal ataxia patients in Nigeria, in: J. Nutr., vol. 130, N° 6, pp. 1625 – 1628.
- NTAIS, C., POLYCARPOU, A., IOANNIDIS, J. P., 2003, Vitamin D receptor gene polymorphisms and risk of prostate cancer: a meta-analysis, in: Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev., Vol. 12, N° 12, pp. 1395 – 1402.
- NUSSEY, S. S., WHITEHEAD, S. A., 2001, Endocrinology: An Integrated Approach, BIOS Scientific Publishers, Ltd. Oxford, UK.
- OMENN, G. S., GOODMAN, G., THORNQUIST, M., 1994, The beta-carotene and retinol efficacy trial (CARET) for chemoprevention of lung cancer in high risk populations: Smokers and asbestos-exposed workers, in: Cancer Res., Vol. 54, N° 7, pp. 2038 – 2043.
- OTTAWAY, B. P., 1993, Stability of vitamins in food, in The Technology of Vitamins in Food, Blackie Academic & Professional, Glasgow, pp. 90 – 113.

- OTTINO, P., DUNCAN, J. R., 1997, Effect of α -tocopherol succinate on free radical and lipid peroxidation levels in BL6 melanoma cells, in: *Free Radical Biol. Med.*, Vol. 22, pp. 1145 – 1151.
- OLTEANU, Z., MARIN, E., COJOCARU, D. C., COMĂNECU, ȘT., 1994, La dynamique de l'activite de la dehydrogenase et de la catalase pour la souche *Torulopsis candida* M1, in: *An. Șt. Univ. „Alexandru Ioan Cuza” Iași, s II a, Biologie*, Tom 40, pp. 101 – 104.
- OVEJERA, A. A., HOUCHENS, D. P., BARKER, A. D., 1978, Inactivity of DL-amygdalin against human breast and colon tumor xenografts in athymic (nude) mice, in: *Cancer Treat Rep.*, Vol. 62, N° 4, pp. 576–578.
- OWEN, J. M., 1988, Role of abscisic acid in a calcium second messenger system, in: *Physiol. Plantarum* vol. 72, pp. 637–641.
- PARK, Y. K., SEMPOS, C. T., BARTON, C. N., VANDERVEEN, J. E., YETLEY, E. A., 2000, Effectiveness of food fortification in the United States: the case of pellagra, in: *Am. J. Public Health*, vol. 90, N° 5, pp. 272 – 738.
- PARKER, R. S., 1989, Dietary and biochemical aspects of vitamin E, *Adv. Food Nutr. Res.*, Academic Press Inc. San Diego, Vol. 33.
- PEA, S., WEST, C. E., 1996, Dietary carotenoids and their role in combating vitamin A deficiency: A review of the literatura, in: *Eur. J. Clin. Nutr.*, vol. 50, N° 3, pp. 38 – 53.
- PERCUDANI, R., PERACCHI, A., 2003, A genomic overview of pyridoxal phosphate - dependent enzymes, *EMBO Reports*, vol. 4, pp. 850 – 854.
- PFEFFER, F., CASANUEVA, E., KAMAR, J., GUERRA, A., PERICHART, O., VADILLO-ORTEGA, F., 1998, Modulation of 72-kilodalton type IV collagenase (Matrix metalloproteinase-2) by ascorbic acid in cultured human amnion-derived cells, in: *Biol. Reprod.*, Vol. 52, pp. 326 – 329.
- PHARIS, R. P., REID, D. M. (eds.), 1985, *Hormone Regulation of Plant Development (III)*. Berlin-Heidelberg-New York-Tokyo: Springer Verlag. (Encyclop. Plant Physiol. 11).
- POPESCU, AURORA, DINU, VERONICA, TRUȚIA, E., POPA, CRISTEA, ELENA, 1996, *Biochimie medicală*, Ed. Medicală, București.
- POSEY, W. C., NELSON, H. S., BRANCH, B., PEARLMAN, D. S., 1978, The Effects of Acute Corticosteroid Therapy for Asthma on Serum Immunoglobulin Levels, in: *J. Allergy Clin. Immunol.* vol. 62, p. 340.
- RACADOT, A., 1993, Dosage de la 1,25 dyhydroxi-vitamine D plasmatique par couplage CLHP - RIA, in: *Immunoanal. Biol.*, vol. II, Elsevier, Paris, pp. 113 – 118.
- RACADOT, A., 1990, La “Sex-binding protein” ou SBP (protéine de transport des hormones sexuelles), in: *Immunoanal. Biol. Spéc.*, Elsevier, Paris, vol. 21, pp. 17–27.
- RAINAUD, J. C., 1995, Acide retinoique et vieillissement cutane, in: *Medicine Sciences*, vol. 11, pp. 140 – 141.
- RASCHKE, K. R., FIRN, D., PIERCE, M., 1975, Stomatal closure in response to xanthoxin and abscisic acid, in: *Planta (Berl.)* vol. 125, pp. 149–160.
- RASCHKE, K., 1975, Simultaneous requirement of carbon dioxide and abscisic acid for stomatal closing in *Xanthium strumarium* L., in: *Planta (Berlin)* vol. 125, pp. 243–259.
- REITER, R. J., MANCHESTER, L. C., TAN, D. X., 2005, Melatonin in walnuts: influence on levels of melatonin and total antioxidant capacity of blood, in: *Nutrition*, vol. 21, pp. 920 – 924.

- REVANKAR, C. M., CIMINO, D. F., SKLAR, L. A., ARTERBURN, J. B., PROSSNITZ, E. R., 2005, A transmembrane intracellular estrogen receptor mediates rapid cell signaling, in: *Science*, vol. 307, pp. 1625 – 1630.
- RIECK, J., HALKIN, H., ALMOG, S., 1999, Urinary loss of thiamine is increased by lowdoses of furosemide in healthy volunteers, in: *J. Lab. Clin. Med.*, vol. 134, N° 3, pp. 238 – 243.
- RINDI, G., 1996, Thiamin, in: Ziegler E.E., Filer L.J., Eds. *Present Knowledge in Nutrition*, pp.160 – 166.
- ROBERTSON, K. D., JONES, P. A., 2000, DNA methylation: past, present and future directions, in: *Carcinogenesis*, Vol. 21, pp. 461–467.
- RODRIGUEZ-MARTIN, J. L., QIZILBASH, N., LOPEZ-ARRIETA, J. M., 2001, Thiamine for Alzheimer's disease (Cochrane Review), in: *Cochrane Database Syst. Rev.*, vol. 2.
- ROSS, W. E., 1985, Unconventional cancer therapy, in: *Compr Ther*, Vol. 11, N° 9, pp. 37–43.
- ROY, O., 1995, Hypocalcemics chroniques et hypercalcemics. Strategie diagnostique, in: *Optionbio*, N° 1, pp. 5 – 8.
- RUSSELL, R. M., SUTER, P. M., 1993, Vitamin requirements of elderly people: an update, in: *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 58, N° 1, pp. 4 – 14.
- SCHATZ, D. A., BINGLEY, P. J., 2001, Update on major trials for the prevention of type 1 diabetes mellitus: the American Diabetes Prevention Trial (DPT – 1) and the European Nicotinamide Diabetes Intervention Trial (ENDIT), in: *J. Pediatr. Endocrinol.Metab.*, vol. 14, N° a Suppl., pp. 619 – 622.
- SCHRIER, R. W., GROSS, P., GHEORGHIAD, M., BERL, T., VERBALIS, J. G., CZERWIEC, F. S., ORLANDI, C., 2006, Tolvaptan, a selective oral vasopressine V2-receptor antagonist, for hyponatremia, in: *New Eng. J. Med.*, vol. 355, pp. 2099 – 2112.
- SCHUMANN, K., 1999, Interactions between drugs and vitamins at advanced age, in: *Int. J. Vitamin. Nutr. Res.*, vol. 69, N° 3., pp. 173 – 178.
- SENNETT, C., ROSENBERG, L. E., 1981, Transmembrane transport of cobalamin in prokaryotic and eukaryotic cells, in: *Ann. Rev. Biochem.*, vol. 50, pp. 1053 – 1086.
- SHORTT, C., 1990, Micronutrients and health, 1: vitamins: in: *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 1, N° 1, pp. 17 – 19.
- SINGH, R., ARTAZA, J. N., TAYLOR, W. E., BRAGA, M., YUAN, X., NESTOR, F., 2005, Testosterone Inhibits Adipogenic Differentiation in 3T3-L1 Cells: Nuclear Translocation of Androgen Receptor Complex with β -Catenin and TCF4 may Bypass Canonical Wnt Signaling to Downregulate Adipogenic Transcription Factors, in: *Endocrinology*, vol. 10, p. 1649.
- SINHA-HIKIM, I., TAYLOR, W. E., NESTOR, F., BHASIN, S., 2004, Androgen Receptor in Human Skeletal Muscle and Cultured Muscle Satellite Cells: Up-Regulation by Androgen Treatment, in: *Endocrinology and Metabolism*, vol. 89, pp. 5245 – 5255.
- SOFFER, L. J., DORFMAN, R. I., GaABRILOVE, J. L. 1998, *The Human Adrenal Gland*, Febiger, Phil.
- STOICA, A., SACEDA, M., FAKHRO, A., 1999, Regulation of estrogen receptor-alpha gene expression by 1,25-dihydroxyvitamin D in MCF-7 cells, in: *J. Cell Biochem.*, Vol. 75, N° 4, pp. 640 – 651.

- SUTER, P. M., HALLER, J., HANY, A., VETTER, W., 2000, Diuretic use: a risk for subclinical thiamine deficiency in elderly patients, in: *J. Nutr. Health. Aging.*, vol. 4, N° 2, pp. 69 – 71.
- SYRIGOS, K. N., ROWLINSON-BUSZA, G., EPEKETOS, A. A., 1998, In vitro cytotoxicity following specific activation of amygdalin by beta-glucosidase conjugated to a bladder cancer-associated monoclonal antibody, in: *Int J Cancer*, Vol. 78, N° 6, pp. 712–719.
- TAMAȘ, VIORICA., NEAMȚU, G., 1986, Pigmenții carotenoidici și metaboliti, vol. I, Ed. Ceres, București.
- TAMAȘ, VIORICA, BOITOR, I., 1977, Hormonii și funcțiile lor biochimice, Ed. Ceres, București.
- TANG, A. M., GRAHAM, N. M., SAAH, A. J., 1996, Effects of micronutrient intake on survival in human immunodeficiency virus type 1 infection, in: *Am. J. Epidemiol.*, vol. 143, N° 12, pp. 1244 – 1256.
- TANPHAICHITR, V., 1999, Thiamin, in: Shils M., Ed. *Nutrition in Health and Disease*, pp. 381 – 389.
- TEE, E. S., 1992, Carotenoids and retinoids in human nutrition, in: *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.*, vol. 31, pp. 103 – 163.
- TERROINE, T., 1986, Les interrelations vitaminiques, Ed. du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris.
- THIMANN, K. V., 1977, Hormone action in the whole life of plants, in: Amherst, Mass., University of Massachusetts Press.
- THIMANN, K. V., 1978, Senescence. *Bot. Mag. Tokyo Special Issue 1*, pp. 19–43.
- THOMPSON, J. R., GERALD, P. F., WILLOUGHBY, M. L., ARMSTRONG, B. K., 2001, Maternal folate supplementation in pregnancy and protection against acute lymphoblastic leukaemia in childhood: a case-control study, in: *Lancet*, Vol. 358, pp. 1935–1940.
- TODD, K., BUTTERWORTH, R. F., 1999, Mechanisms of selective neuronal cell death due to thiamine deficiency, in: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 53, pp. 404 – 411.
- TREWAVAS, A. J. 1982, Growth substance sensitivity: The limiting factor in plant development, in: *Physiol. Plant.* Vol. 55, pp. 60–72.
- TREWAVAS, A. J., CLELAND, R. E., 1983, Is plant development regulated by changes in the concentration of growth substances or by changes in the sensitivity to growth substances? in: *Trends in Biochem. Sciences* vol. 8, pp. 354–357.
- TSAO, C. S., 1991, Inhibiting effect of ascorbic acid on the growth of human mammary tumor xenografts, in: *Am. J. Clin. Nutr.*, Vol. 54, pp. 1274 – 1280.
- UTTER, M. F., SHEU, K. F. R., 1980, Biochemical mechanism of biotin and thiamin action and relationships to genetic disease, in: *Birth. Defects*, vol. 16, pp. 289 – 304.
- VARNER, J. E., HO, D. T., 1976, Hormones. in "Plant Biochemistry" (J. BONNER, J. E. VARNER, eds), S. 713–770, New York, London Academic Press, (3. Aufl.).
- VENIS, M. A., 1977, Receptors for plant hormones. *Adv. Bot. Res.* Vol. 5, pp. 53–88.
- VIETH, R., 1999, Vitamin D supplementation, 25-hydroxivitamin D concentration and safety, in: *J. Am. Clin. Nutr.*, vol. 69, pp. 842 – 856.
- VOET, D., VOET, J. G., 1990, *Biochemistry*, John Wiley & Sons, New York.
- WACTAWSKI-WENDE, J., KOTCHEN, J. M., ANDERSON, G. L., ASSAF, A. R., BRUNNER, R. L., O'SULLIVAN, M. J., MARGOLIS, K. L., OCKENE, J. K., PHILIPS, L., POTTERN, L., PRENTICE, R. L., ROHAN, T. E., 2006, Calcium

- plus vitamin C supplementation and the risk of colorectal cancer, in: *N. Engl. J. Med.*, vol. 354, N^o10, p. 1102.
- WAINFAN, E., POIRIER, L. A., 1992, Methyl groups in carcinogenesis: effects on DNA methylation and gene expression, in: *Cancer Res.*, Vol. 52, pp. 2071s–2077s.
- WATERS, M.D., BERGMAN, H.B., NESNOW S., 1988, The genetic toxicology of Gene-Tox noncarcinogens, in: *Mutat Res*, Vol. 205, pp. 139–182.
- WEBER, T., LU, M., ANDERA, L., LAHM, H., GELLERT, N., FARISS, M. W., KORINEK, V., SATTTLER, W., UCKER, D. S., TERMAN, A., SCHRÖDER, A., ERL, W., BRUNK, U., COFFEY, R. J., WEBER, C., NEUZIL, J., 2002, Vitamin E succinate is a potent novel anti-neoplastic agent with high tumor selectivity and cooperativity with tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (Apo2 Ligand) in vivo, in: *Clin. Cancer Res.*, Vol. 8, pp. 863 – 869.
- WEBER, C. E., 1998, Cortisol's purpose. *Medical Hypotheses*, vol. 51, pp. 289–292.
- WIESENFELD-HALLIN, Z., XU, X. J., HOKFELT, T., 2002, The role of spinal cholecystokinin in chronic painstates, in: *Pharmacol. Toxicol.*, vol. 91, N^o 6, pp. 398 – 403.
- WILKINSON, T. J., HANGER, H. C., GEORGE, P. M., SAINSBURY, R., 2000, Is thiamine deficiency in elderly people related to age or co-morbidity?, in: *Age Ageing.*, vol. 29, N^o 2, pp. 111 – 116.
- WODINSKY, I., SWINIARSKI, J. K., 1975, Antitumor activity of amygdalin MF (NSC-15780) as a single agent and with beta-glucosidase (NSC-128056) on a spectrum of transplantable rodent tumors, in: *Cancer Chemother Rep.*, Vol. 59, N^o 5, pp. 939–950.
- YOUNG, V. R., NEWBERNE, P. M., 1981, Vitamins and cancer prevention: issues and dilemmas, in: *Cancer* 47 (5 Suppl), pp. 1226 – 1240.
- YU, W. D., MCELWAIN, M. C., MODZELEWSKI, R. A., 1998, Enhancement of 1,25-dihydroxyvitamin D₃-mediated antitumor activity with dexamethasone, in: *J. Natl. Cancer Inst.*, Vol. 90, N^o 2, pp. 134 – 141.
- ZHDANOVA, I., WURTMAN, R., REGAN, M., TAYLOR, J., SHI, J., LECLAIR, O., 2001, Melatonin treatment for age-related insomnia, in: *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 86, N^o 10, pp. 4727 – 4730.
- ZHENG, W., BLOT, W. J., DIAMOND, E. L., 1993, Serum micronutrients and the subsequent risk of oral and pharyngeal cancer, in: *Cancer Res.*, Vol. 53, N^o 4, pp. 795 – 798.

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

B.C.U. "M. EMINESCU" IAȘI

BCU IAS/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

2010/13

50

«A ma connaissance, il n'existe pas sur le marché des livres scientifiques un traité aussi complet dédié à ces substances, les vitamines et les hormones, qui présentent un intérêt capital et vital des multiple points de vue de la Chimie, de la Biochimie, de la Biologie, de la Pathologie et, plus encore, de la Nutrition.

L'ouvrage n'est ni plus ni moins qu'un traité de Biochimie Dynamique d'une importance fondamentale car l'étude des mécanismes de la vie au niveau moléculaire représente l'un des chapitres le plus passionnants de la science moderne.

La connaissance de ces mécanismes fondamentaux est indispensable pour comprendre les phénomènes que biologistes et pathologistes observent au niveau des systèmes biologiques complexes que ce soit à l'échelle cellulaire ou à celle de l'organisme complet.

L'ouvrage, qui donne une vision synthétique de la Biochimie, répond à un besoin au moment où les progrès de la Biologie et de la Pathologie auront sans nul doute des répercussions importantes sur la vie de l'Homme.

Il intéressera certainement aussi bien les étudiants que les chercheurs et les enseignants dans des domaines aussi varié que ceux de la Biologie, de la Biochimie, de la Nutrition et des Sciences Medico-Pharmaceutiques».



Pr. Emér. Jean Montreuil
Membre d'Honneur de l'Académie Roumaine
Professeur *Honoris Causa* de l'Université
«Alexandru Ioan Cuza» de Jassy

